



HANDBUCH

DER

BIOCHEMISCHEN ARBEITSMETHODEN.

HERAUSGEGEBEN VON

PROF. DR. EMIL ABDERHALDEN,

DIREKTOR DES PHYSIOLOGISCHEN INSTITUTES DER UNIVERSITÄT HALLE A. S.

SIEBENTER BAND.

BEARBEITET VON

Priv.-Doz. Dr. **Hermann Dold,** Straßburg i. E. — Prof. Dr. **Felix Ehrlich,** Breslau. — Prof. Dr. **H. v. Euler,** Stockholm. — Prof. Dr. **Otto Folin,** Boston. — Priv.-Doz. Dr. **E. Grafe,** Heidelberg. — Priv.-Doz. Dr. **Viktor Grafe,** Wien. — Prof. Dr. **G. Herxheimer,** Wiesbaden. — Dr. **Max Klostermann,** Halle a. S. — Dr. **Berthold Oppler,** München. — Priv.-Doz. Dr. **Hans Przibram,** Wien. — Prof. Dr. **Erich Regener,** Charlottenburg. — Prof. Dr. **Ernest H. Starling,** London. — Priv.-Doz. Dr. **Georg Trier,** Zürich. — Priv.-Doz. Dr. **Géza Zemplén,** Selmeczbánya.

MIT 198 FIGUREN.

URBAN & SCHWARZENBERG

BERLIN N., FRIEDRICHSTRASSE 105b — WIEN I., MAXIMILIANSTRASSE 4

1913.



Vorwort.

Der siebente Band des Handbuches der biochemischen Arbeitsmethoden bringt außer einigen Ergänzungen zu Methoden, die bereits in früheren Bänden behandelt worden sind, hauptsächlich die Methodik der Grenzgebiete. Es ist ganz unmöglich, das Gebiet desjenigen Physiologen, der im wesentlichen mit chemischen Methoden arbeitet, zu umgrenzen. Je nach den Fragestellungen wird bald dieses, bald jenes Nachbargebiet betreten. Gerade hierbei zeigt sich am meisten eine gewisse Unsicherheit, weil es gilt, Methoden anzuwenden, die dem einzelnen Forscher oft etwas ferner liegen. So will man z. B. sich rasch über die Zusammensetzung eines bestimmten Nahrungsmittels orientieren. Man scheut vor der Untersuchung zurück, weil oft die Zeit fehlt, um durch eingehendes Studium der vorhandenen Methoden selbst zu entscheiden, welche den gestellten Anforderungen am besten entspricht. Oder es interessiert uns, die Morphologie irgend eines Gewebes zu studieren. Wie soll man das Präparat härten, färben, schneiden usw.? Auf diese Fragen soll der vorliegende Band Antwort geben.

Den Herren Mitarbeitern sage ich auch an dieser Stelle für ihre getreue Hilfe meinen herzlichsten Dank. Möge der neue Band eine ebenso freundliche Aufnahme finden, wie die bisher erschienenen!

Halle a. S., den 1. Juli 1913.

Emil Abderhalden.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Das lebende Tiermaterial für biochemische Untersuchungen (Auswahl, Beschaffung und Haltung unter verschiedenen Bedingungen).

Von **Hans Przibram**, Wien.

I. Auswahl der Arten.

Den Ausgangspunkt für biochemische Untersuchungen bildet das lebende Material. Wenngleich der Biochemiker selbst öfters in die Lage kommen wird, bereits verarbeitete oder mindestens tote Produkte der Lebewesen zu benützen, so dürfte eine erste Orientierung über das lebende Tier (oder die Pflanze), von welchem dieses Produkt stammt, stets von Nutzen sein. Wenn es sich vollends um die während des Stoffwechsels vor sich gehenden chemischen Prozesse handelt, kann bloß eine Vertrautheit mit den Lebewesen selbst die Bedingungen für eine vorteilhafte Bearbeitung ihrer Chemismen schaffen. Es gehören daher unter die biochemischen Arbeitsmethoden alle jene Maßnahmen, die uns befähigen, in den Besitz des gewünschten Arbeitsmateriales zu gelangen, dasselbe in der für unsere Untersuchungen geeigneten Weise zu bewahren, zu vermehren oder selbst in willkürlicher Weise zu verändern.

Wie es für den Chemiker auch sonst die erste Frage bei einer neuen Untersuchung sein wird, sobald es sich um konkrete Fälle handelt, welche Stoffe für das zu untersuchende Problem geeignet erscheinen, so wird auch der Biochemiker sich zunächst mit der Auswahl des Materiales zu beschäftigen haben.

Wir haben dabei in Betracht zu ziehen:

1. Die Ergiebigkeit des Materiales an chemischen Produkten.
2. Die Isolierbarkeit der gewünschten Produkte.

1. Ergiebigkeit des Materiales.

Die Menge des Stoffes, welchen der Chemiker zu seinen Untersuchungen braucht, ist mit Ausnahme der mikroskopischen Methoden gewöhnlich recht beträchtlich im Verhältnis zu seinem Vorkommen in einem einzigen Tierexemplare. Bloß die Wirbeltiere erreichen solche Größen, daß manchmal für eine chemische Analyse ein einziges Individuum ausreicht.



Mithin werden wir eine solche Auswahl der Tierarten treffen müssen, daß wir mit möglichst wenigen Exemplaren auskommen oder eine möglichst große Anzahl von Exemplaren uns leicht verschaffen können. Die erste Alternative wird durch Auswahl jener Tierspezies aus der zu untersuchenden Gruppe erzielt, welche noch die relativ bedeutendste Größe erreichen, die letztere durch solche, welche in der Natur recht häufig sind oder in der Gefangenschaft sich leicht beliebig vermehren lassen.

Unter den Einzelligen, welche alle kleine Formen sind, ist die Lohblüte, Aethalium septicum, die einzige, in größeren Mengen erhältliche. Von Infusorien sind Bursaria truncatella und Stentor als größte Arten unserer Gewässer zu nennen; Paramaecium läßt sich am leichtesten stark vermehren. Die Gewinnung von größeren Mengen der Infusorien muß auf der Zentrifuge durch Absatz der sonst diffus in der Nährlösung schwimmenden Tierchen geschehen.

Von den meerbewohnenden Radiolarien, dann von den Schwämmen und Korallen sind die Gerüstsubstanzen, welche ganze Ablagerungen bilden, leicht in großer Menge erhältlich.

Seerosen (Actinia sulcata, equina etc.) und Quallen (Aurelia, Cyanea etc.) erreichen zwar recht beträchtliche Größe, liefern aber infolge ihres sehr hohen Wassergehaltes sehr wenig organische Substanz. Unter den Stachelhäutern sind Seeigel (Echinus), Seesterne (Asterias) und Seewalzen (Holothuria, Stichopus) zu erwähnen. Die Leichtzerfließlichkeit der Haut bei der letztgenannten Gattung macht die Verarbeitung jedoch schwierig. Unter den Würmern übertrifft der südeuropäische Lumbricus herculeus unsere Regenwürmer an Größe; im übrigen kommen die in Haufen lebenden Süßwasserwürmer (Tubifex), die bekannten Blutegel (Hirudo) und einzelne Meeresbewohner (Aphrodite, Spirographis etc.) in Betracht.

Von den Gliederfüßern stellen die Crustaceen in den Molukkenkrebsen (Limulus) und in gewissen, den Europäern leichter zugänglichen zehnfüßigen Krebsen, wie Hummer (Homarus), Languste (Palinurus), Bärenkrebs (Scylarus), Seespinne (Maja), Taschenkrebs (Cancer) und anderen Krabben, gelegentlich riesige Exemplare, die 1/2—1 *m* Länge erreichen können. Im Gegensatz zu diesen kiemenatmenden Gliederfüßlern gibt es unter den tracheenatmenden bloß wenige größere Formen, welche auch nicht annähernd die genannte Länge erreichen. Die größten Spinnen sind die Vogelspinne (Mygale) und der zentralafrikanische Skorpion (Scorpio), der größte Tausendfüßer, der giftige Skolopender (Scolopendra); von Insekten sind die tropischen Zikaden (Cicada orni bereits in Südeuropa), der ägyptische Wasserskorpion (Belostoma niloticum), die Wasserjungfern (Libellula, Aeschna), die Heupferde (Locusta viridissima, viel größer die südeuropäischen Saga u. a.), Stabheuschrecken (Aplocomus), wandelnden Blätter (Phyllium), Gottesanbeterinnen (Mantis, größer Sphodromantis in Ägypten und andere tropische Arten), Spinner (Saturnia, Attacus, Cecropia u. v. a.), Schwärmer (Sphinx, Deilephila, Smerinthus) und einzelne Käferarten (Lucanus cervus, Hydrophilus piceus, Goliathus gigantheus, Dynastes hercules etc.) zu nennen. Die

Weichtiere oder Mollusken weisen in allen größeren Abteilungen Formen beträchtlicher Größe auf: wir finden Steckmuscheln (Pinna), Süßwasserschnecken (Ampullaria gigas) und namentlich Kraken (Octopus) von imponierenden Dimensionen.

Von den Manteltieren erreicht Phallusia eine größere Länge.

Während die Lanzettfischchen (Amphioxus oder Branchiostoma) keine bedeutende Größe erlangen (am größten ist noch die Form aus Messina), gibt es unter den Zyklostomen schon größere Fische (Myxine); fast beliebige Größe kann unter den echten Gnathostomen erreicht werden, hier finden sich die Riesenhaie (Carcharias), die Chimaere (Chimaera), der Hausen (Acipenser), der Wels (Silurus), der Huchen (Salmo hucho) und andere Wasserungeheuer. Die größten Amphibien sind die ostasiatischen Riesensalamander (Cryptobranchus), der Furchenmolch (Necturus), der Ochsenfrosch (Rana mugiens), der Hornfrosch (Ceratophrys cornuta) und die Riesenkröte (Bufo marinus).

Die Reptilien sind unter den Riesen durch zahlreiche Schlangen (Boa, Python etc.), die Krokodile (Crocodilus, Alligator, Gavialus), Riesenschildkröten (Testudo elefantina) und Seeschildkröten (Chelone mydas, Sphargis coriacea) vertreten, die Vögel durch die Strauße (Struthio, Rhea, Dromaeus, Casuarius), das Albatros (Diomedea) und manche Raubvögel (Sarcorhamphus, Gypaëtes), die Säugetiere durch viele Huftiere (Elephantus, Rhinoceros, Hippopotamus, Cameleopardus, Camelus, Cervus alces etc.), Raubtiere (Felis leo, tigris, Ursus arctos, maritimus, ferox u. a.) sowie Affen (Gorilla etc.).

Nur wenige der Riesenformen lassen sich leicht oder wenigstens leicht in größerer Menge halten und züchten. Es wird daher in der Praxis überall da, wo es sich nicht um die notwendig isolierte Behandlung jedes Exemplares, wie bei manchen physiologischen Stoffwechsel- und Wachstumsuntersuchungen, handelt, vorteilhafter sein, sich an die etwas kleineren, aber leichter in größeren Mengen beschaffbaren und züchtbaren Arten zu halten. Vor allem kommen da die domestizierten oder doch schon längere Zeit in den Häusern der Menschen wohnenden Tiere in Betracht, sowie jene, welche zu irgend welchen Nutzzwecken beständig gehegt oder gefangen werden.

Es sind zu erwähnen: der Badeschwamm (Euspongia), das Essigälchen (Anguillula aceti, in den Essigbehältern), der Regenwurm (Lumbricus, Allolobophora, als Fischköder), der Blutegel (Hirudo), der Flußkrebs (Astacus fluviatilis) und einige Verwandte; das Heimchen (Gryllus domesticus) und die Küchenschaben (Periplaneta) sowie andere als Ungeziefer bekannte Insekten, der Mehlkäfer (Tenebrio, als Vogelfutter, ebenso die Puppen der Ameisen, sog. „Ameiseneier“), der Seidenspinner (Bombyx mori), die Honigbiene (Apis mellifica) und die Fliegen (Musca domestica, Sarcophaga auf Fleisch, Drosophila auf Obst); die Weinbergschnecke (Helix) und die Mießmuschel (Mytilus als Leckerbissen) etc.; karpfenartige Fische (darunter die als Zierfische beliebten Goldfische, Cyprinus, Carassius u. a.), die Forellen (Trutta) und andere Tafelfische, der Wasserfrosch (Rana

esculenta, wegen der „Froschschenkel“ gesucht), der Laubfrosch (Hyla arborea, „Wetterprophet“), die Suppenschildkröte (Caretta), dann die allbekannten Hausvögel (einschließlich Kanarienvogel und Sperling) und Haussäugetiere (unter letzteren auch der Igel, Erinaceus, die Hausmaus, Mus musculus und die beiden Arten Ratten, Mus decumanus und rattus, sowie die Bilche, Myoxus glis, Muscardinus avellanarius u. a.; das Frettchen, Putorius furo, zu zählen), sowie das jagdbare Wild.

Außer diesen Gattungen sind zu manchen Jahreszeiten noch leicht zu haben: die Teichmuschel (Anodonta), die Elritze (Phoxinus), die Bartgrundel (Nemachilus) und andere Fische, der Feuersalamander (Salamandra maculosa), die Wassermolche (in Europa Molge cristatus, taeniatus u. a.), der Grasfrosch (Rana temporaria), Schlangen (Tropidonotus natrix, Coluber longissimus etc.), Schildkröten des Süßwassers (Emys) und des Landes (Testudo), Eidechsen (Lacerta, Tarentola etc.), Amsel (Turdus merula) und andere nicht jagdbare Vögel, Maulwurf (Talpa) und Fledermäuse (Noctiluca, Plecotus).

Nicht immer kommt es auf die absolute Größe der Tierart oder auf eine größere Menge von Exemplaren an, um ein chemisches Produkt in wirksamer Weise zu erhalten. Ein typisches Beispiel solcher Art ist die Gewinnung einer Tyrosinase aus dem Tintenbeutel des Tintenfisches (Sepia officinalis), wozu schon ein oder einige wenige Exemplare genügen, um die Entstehung von Melanin aus dem mit Preßsaft des Tintenbeutel versetzten Tyrosin zu demonstrieren, während von größeren Octopusarten der Tintenbeutel nicht ausreicht, um deutliche Resultate zu erlangen. Die Sepie besitzt eben eine besonders energische Produktion des Sepiapigmentes.

2. Isolierbarkeit der Bestandteile.

Von großem Vorteile für die chemische Bearbeitung ist es, wenn der zu untersuchende Stoff entweder vom lebenden oder doch frischgetöteten Tiere in einem nicht allzu verunreinigten Zustande physikalisch abgetrennt werden kann, ehe seine chemische Aufschließung erfolgt. Eine solche Abscheidung nehmen die Tiere bei den verschiedenen Prozessen der Exkretionen und Sekretionen selbst vor und es handelt sich dann bloß um die Auffangung der betreffenden Flüssigkeiten oder sonstigen Produkte, ehe sie sich mit anderen Stoffen vermengt haben. Die Methodik zum Festhalten und zur Abzapfung findet man in den Büchern über physiologische Methodik.[1, 2, 3]

Ohne weiteres lassen sich jene rasch erstarrenden Abscheidungen verarbeiten, die nach der Ablage ein Stück bilden: Eikokone (Lumbricus,

[1]) *R. Tigerstedt*, Handbuch der physiol. Methodik, I. 1. Abt. Allgemeine Technik d. physiol. Versuche von *J. P. Pawlow* bearbeitet. Leipzig, S. Hirzel, 1910 (Wirbeltiere).

[2]) *J. v. Uexkuell*, Leitfaden in das Studium der exper. Biologie der Wassertiere. Wiesbaden, Bergmann, 1905 (namentlich Seetiere).

[3]) *M. Gildemeister*, Zeitschr. f. biol. Technik u. Methodik. Straßburg, J. Trübner, I, 1908/1909 und folg. Bände. J. Barth, Leipzig (zahlreiche einzelne Notizen).

Hirudo, Hydrophilus, Mantis und andere Mantidae). Puppenkokone (Bombyx und viele andere Bombycidae und Saturnidae) und ausgeschlüpfte Puppenhüllen (Lepidoptera, Tonnen der Muscidae), ferner die bei den „Häutungen" abgeworfenen Häute der Insekten, Spinnen und Krustentiere. Leicht lassen sich die Schalen und Gehäuse der Muscheln und Schnecken vom Tiere trennen, wenn es nicht darauf ankommt, das Tier unverletzt zu erhalten.

Bei den meisten Untersuchungen wird es notwendig sein, durch Zerlegung der Tiere die mit den gewünschten Stoffen versehenen Teile zu gewinnen. Hiebei können die Praktika für Zootomie[1, 2] zu Rate gezogen werden, welche für die Haupttypen die Zergliederungsart angeben. Die Methodik für die zoologischen Handgriffe bringt neuerdings *Schubergs* „Einführung in die Technik des zoologischen Laboratoriums".[3]

Bei der Auswahl der Arten wird es von größtem Vorteile sein, jene auszuwählen, welche in bestimmten, nicht zu schwer isolierbaren Organen Stoffe in großer Konzentration enthalten. In diesem Zusammenhange sei wieder an den Tintenbeutel der Sepien erinnert: hier findet sich Melanin in großer Menge aufgespeichert, während es sonst nur mühsam in geringen Quantitäten aus den pigmentierten Häuten etc. gewonnen werden kann oder bloß an einzelnen Individuen (Melanosarkomen der weißen Pferde z. B.) pathologisch vorkommt.

In einigen Fällen ist eine mechanische Isolation der die zu gewinnenden Stoffe enthaltenen Organe nicht nötig, sondern es genügt die Ausziehung der ganzen Tiere durch Lösungsmittel, welche bestimmte Stoffe besonders leicht extrahieren. Namentlich gilt dies von Farbstoffen, so dem merkwürdigen, bereits von Süßwasser extrahierbaren Farbstoffe der Turakofedern, den Farbstoffen des Haarsternes (Antedon), welcher nach dem Tode des Tieres ins Wasser austritt, den grüngelben Farbstoffen der Heuschrecken, welche in Äther extrahiert werden.

II. Beschaffung.

Haben wir eine bestimmte Tiergruppe oder Tierart zur Vornahme von chemischen Untersuchungen ausgewählt, so tritt nun die Frage der Beschaffung des gewünschten Materiales an uns heran.

Zunächst werden wir die Bezugsquellen für das lebende Material ausfindig zu machen haben, sodann uns mit dem Fange und dem Transporte der Tiere befassen.

1. Bezugsquellen.

Die naheliegendste Quelle für den Bezug von zoologischem Materiale wird jedem, der sich noch nicht mit solchen Studien befaßt hat, die Tierhandlung erscheinen. In Wirklichkeit befindet sich leider der kaufmännisch

[1]) *Hatschek* und *Cori*, Elementarkurs der Zoologie. Jena, Fischer, 1896.
[2]) *W. Kükenthal*, Leitfaden f. d. zool. Praktikum. 2. Aufl. Jena, Fischer, 1901.
[3]) *A. Schuberg*, Zoologisches Praktikum. Bd. 1. Leipzig, Engelmann, 1910.

betriebene Tierhandel noch in einem solchen Zustande, daß er für die Wissenschaft nicht jene Bedeutung hat, die ihm zukommen könnte. Die Ursache hierfür liegt einerseits darin, daß die Zoologie bis in die jüngste Zeit nur geringes Interesse gezeigt hat, ihre Objekte lebend zu bekommen, andrerseits Menagerien und Liebhaber für einzelne, seltene oder durch auffallende Eigenschaften ausgezeichnete Stücke fabelhafte Preise bezahlen, welche meist die für wissenschaftliche Arbeiten zur Verfügung stehenden Mittel weit übersteigen.

Daher steht es den Tierhandlungen meist nicht dafür, das für unsere Studien in Betracht kommende, gewöhnlichere, und daher selbst in größeren Mengen billige Material zu sammeln und zu halten, bis der Bedarf an sie herantritt. Die größeren, Aquarien und Terrarien führenden Tierhandlungen beschaffen zwar solches Material auf Bestellung, aber auch dann meist zu Preisen, welche die Kosten weit übersteigen, die eine anderweitige Beschaffung verursacht.

Eine Liste von Händlern findet sich in *R. Friedländers* zoologischem Adreßbuch[1], nach Ländern und Orten geordnet. Dasselbe ist jedoch weit von Vollständigkeit entfernt, so fehlen die sehr empfehlenswerten Adressen von *Tartagli* (Bozzi presso Firenze, Italien) und *Egeling* (125th street, 4th av., New York).

Weitere Adressen leistungsfähiger Firmen und von Tierfängern, eventuell auch die Besorgung des gewünschten Materiales wird man durch Anfrage an einen zoologischen Garten erhalten können, namentlich jenen, der im oder nahe dem Gebiete liegt, welches auch die gewünschte Tierart bewohnt.

Eine Liste der im Januar 1912 vorhandenen zoologischen Gärten auf der ganzen Erde ist von *S. S. Flower*, Direktor des zoologischen Gartens in Giza (Kairo, Ägypten), herausgegeben worden und wird von demselben versendet. Auch in dem genannten Buche von *Friedländer* sind die zoologischen Gärten und ihr Stab angeführt.

In diesem Nachschlagewerke findet man ferner die Adressen einzelner Naturforscher, naturwissenschaftlicher Korporationen, Lehr-, Tierheil- und Versuchsanstalten, welche über die Beschaffbarkeit des Materiales ihrer Heimatländer Auskunft zu geben imstande sind. Für Insekten gibt außerdem *Junk*s Entomologenadreßbuch Auskunft.[2])

Die meiste Aussicht, lebendes Material in der für chemische Zwecke genügenden Menge zu erhalten, bietet der Aufenthalt an einer der für das Studium der Landwirtschaft, des Süßwassers oder des Meeres fast überall errichteten Stationen.

Außer in dem erwähnten zoologischen Adreßbuche finden sich die biologischen Stationen, jedoch nur jene Europas (und ausschließlich der

[1]) 2. vollständig neu bearbeitete Auflage, Juli 1911. Verlag von R. Friedländer und Sohn, Berlin, Karlsstraße 11.

[2]) 1905. Berlin, W. Junk, Rathenowerstraße 22.

Agrikulturstationen) zusammengestellt in: *Ch. A. Kofoid*, The Biological Stations of Europe.[1])

Dieses recht ausführliche Handbuch erlaubt eine erste Orientierung über die zu wählende Station.

Näheres über die Bedingungen der Belegung eines Arbeitsplatzes oder des Bezuges von lebendem Materiale wird man stets am besten durch eine Anfrage an die Direktion der betreffenden Station erfahren.

Alle Stationen geben sich mit der Beschaffung des Materiales für die in ihnen Arbeitenden ab, aber nicht alle versenden lebendes Material. So lehnt dies z. B. die zoologische Station in Neapel, die größte und bedeutendste Seestation der Welt, ausdrücklich ab; die Mitnahme von lebendem Material bei Verlassen des Arbeitsplatzes ist jedoch erlaubt.

Wichtig ist es, sich zu vergewissern, zu welcher Jahreszeit das gewünschte Material an der zum Aufenthalte gewählten Station erhältlich ist. Insbesondere bei Untersuchungen über Eier und Embryonen ist dies sehr wichtig, will man nicht unnütz Zeit versitzen.

Die Neapler Station hat eigene Listen[2]) über die Eiablagezeiten in Neapel veröffentlicht und empfiehlt deren Studium vor der Anfrage um einen Arbeitsplatz.

Da es aber auch sonst keineswegs immer möglich, selbst im Heimatsorte eines Tieres die gewünschten Mengen in einer bestimmten Zeit zu erhalten, so empfiehlt es sich auch für den Biochemiker, stets mehr als ein Thema zur Bearbeitung vorzubereiten und auch den Aufenthalt im Orte der Station nicht zu knapp zu bemessen.

Jene Stationen, welche lebendes Material auch versenden, pflegen auf Anfrage Listen mit Preisangaben zu senden, so die k. k. zoologische Station in Triest, die zoologische Station in Helder (Holland) u. a. Der Versand ist manchmal auf bestimmte Distanzen beschränkt, so soll die kgl. biologische Anstalt auf Helgoland in letzter Zeit bloß mehr nach Deutschland versenden.

Im allgemeinen wird man Material leichter bekommen, wenn man selbst die Heimat der betreffenden Tierart aufsucht, als wenn man sich auf die Zusendung verläßt.

In größeren oder durch eine besondere Fauna ausgezeichneten Orten pflegt es neben den Tierhandlungen Fänger zu geben, die billiger und besser arbeiten, schon deshalb, weil sie ein größeres Interesse an dem Vertriebe ihrer Objekte haben und diese auch an die Händler verkaufen. In Begleitung solcher Leute (welche in den verschiedenen Instituten oder bei Jägern zu erfragen sind) kann man oft selbst die Standorte der betreffenden Tiere aufsuchen und sich von ihrem Vorkommen überzeugen, um dann das Gewünschte in Bestellung zu geben (Preis vorher genau aushandeln!).

[1]) Washington, Government Printing office. 1910.

[2]) Mitteilungen der zoologischen Station Neapel. I. 1879. S. 119 ff., 124 u. II. 1881. S. 162 ff. VIII. 1888. S. 385 ff.

Weitere, nicht immer teuere Quellen sind die Nahrungsmittelhandlungen, Märkte und Schlachthäuser, da dieselben das lebende Material zu Speisezwecken in größerer Menge beziehen, vorrätig halten und nur für besondere Leckerbissen Liebhaberpreise einheben.

Dem Biochemiker wird es ja selten auf besondere Qualität des Geschmackes ankommen, was den Preis der Nahrungsmittel großenteils bestimmt. Wichtig ist auch hier die Beachtung der Jahreszeit: Fischhandlungen dürfen Fische und Krebse nur außerhalb der Schonzeit (diese in den größeren Kalendern angegeben) beziehen. Frösche und Schnecken kommen nur im Winter in großer Anzahl zum Verkaufe, erstere, weil sie schmackhafter, letztere weil sie zu dieser Zeit „eingedeckelt", also ohne die lästige Schleimsekretion zu halten sind.

Noch billiger als von den Nahrungsmittelhändlern wird das lebende Material von den Produzenten, nämlich den Tierzüchtern und Fischbrutanstalten zu haben sein. Anzeigen über abgebbare Fischbrut finden sich stets in den Fischereizeitschriften der verschiedenen Länder[1]), ebenso in den landwirtschaftlichen Zeitschriften und den Vereinsberichten der Bienen-, Vogel-, Kaninchen- und Hundezüchter (Zeitschriftenkataloge in den größeren Bibliotheken nachzusehen). Die Adressen der Nahrungsmittelhändler und der Produzenten sind in den Adreßbüchern (meist auch in den Telephonbüchern) alphabetisch innerhalb der Berufszweige geordnet zu finden; eine allgemeine Zusammenstellung ist mir nicht bekannt, dürfte auch bei dem großen Umfange, den ein derartiges Nachschlagebuch annehmen müßte, nicht existieren.

Die billigste Art, sich Material zu verschaffen, ist es, wenn man selbst in die Lage kommt, die Tiere fangen zu können. Jedoch wird dies dem Biochemiker meist zu viel Mühe und Zeit kosten; für ihn kommt ja die Beobachtung der Gewohnheiten der Tiere, welche den Biologen sonst bei den Fangausflügen fesselt, weniger in Betracht.

Den Fang großer Tiere wird er lieber den Jägern, den Fischfang den Fischern überlassen. Im folgenden Abschnitt soll daher der Fang der Tiere nur insoweit geschildert werden, als er für die Erlangung jenes Materiales wichtig ist, das leicht auf kleineren Exkursionen erbeutet werden kann.

Zum Selbstfangen der Tiere sind unter den Seestationen jene sehr geeignet, die einen flachen, bei Ebbe rasch trocken gelegten Strand besitzen, so z. B. Roscoff (Normandie).

2. Fang.

Das Fangen von Tieren setzt zunächst die Kenntnis des Standortes voraus. Eine Orientierung hierüber geben die größeren Naturgeschichten der Tiere, namentlich *Brehms* Tierleben.[2])

[1]) In deutscher Sprache: Fischerei-Zeitung, J. Neumann, Neudamm, Preußen; Österreichische Fischerei-Zeitung, Wien, I., Schauflergasse 6.

[2]) Bibliographisches Institut, Leipzig. Neue Auflage im Erscheinen begriffen.

Um das gesichtete oder durch andere Merkmale (Fuß- und Freßspuren, Kot, Baue, Geruch) gespürte Tier zu erbeuten, kommen außer andauerndem Suchen Handwerkzeuge und Fallen in Betracht.

Das Ergreifen der Tiere, welche ohne weiteres aufgelesen werden, muß bei verschiedenen Arten in einer derart angepaßten Weise erfolgen, daß weder für den Ergreifer noch für den Ergriffenen ein Schaden erwächst.

Säugetiere und Reptilien, welche empfindlich beißen können, sind am besten im Nacken zu ergreifen (Ratten und Mäuse leichter am Schwanz); das gleiche gilt für räuberische Insekten und für die mit Scheren bewaffneten Krustazeen, wobei das Halsschild resp. der Cephalothorax als dem Nacken entsprechende Teile anzusehen sind.

Giftige Schlangen und andere giftige Tierarten, wie Skorpion, Skolopender etc., sind nicht unmittelbar mit der Hand, sondern mit Pinzetten zu ergreifen. Gegen Biß lassen sich auch dicke Lederhandschuhe gebrauchen.

Die Verwendung von Pinzetten empfiehlt sich auch bei kleineren, leicht zerbrechlichen Wirbellosen. Eidechsen und verwandte Reptilien sowie das Amphibium spelerpes verlieren leicht den Schwanz, der dem Verfolger in der Hand bleibt, viele Heuschrecken die Springbeine. Daher sind diese Tiere auf jeden Fall nur an der vorderen Körperhälfte zu berühren. Zum Fange der Eidechsen können Haar- oder Grasschlingen verwendet werden, welche den mit großer Neugier das fremde Objekt betrachtenden Lacerten um den Hals gelegt und durch das Bestreben des Gefangenen, zu entkommen, zugezogen werden.

Für die meisten fliegenden und schwimmenden Geschöpfe werden Netze verwendet, welche je nach der Verwendungsart aus verschiedenem Stoffe gefertigt werden. Mit der Erzeugung befassen sich eigene Handlungen, die alle für den Fang von Insekten[1]) oder von Fischen[2]) brauchbaren Gegenstände verkaufen.

Praktisch sind Netze, welche nicht fest mit dem Stocke verbunden, sondern mit einer aufschraubbaren Zwinge versehen sind, so daß auf ein und denselben Stock bald ein Mullnetz (für Schmetterlinge und andere fliegende Insekten), bald ein Sackleinennetz (zum Abstreifen der auf Gebüschen sitzenden Insekten), bald ein Wassernetz, welches einen raschen Abfluß des Wassers durch seine Maschen gestattet, aufgeschraubt werden kann (Fig. 1).

Fallen beruhen meist auf dem Prinzipe des Köderns, das auch ohne Falle von Erfolg sein kann, so beim Fange von Abend- und Nachtschmetter-

[1]) Die Apparate zum Insektenfang werden in allen größeren lepidopterologischen und coleopterologischen Handbüchern beschrieben, z. B. in *Berge-Rebel*, Schmetterlingsbuch. 9. Aufl. Stuttgart. Schweizerbart, 1910.

[2]) Über Netzarten und Planktonnetze vgl. Science of the Sea, edit. by *H. Fowler*, London, Murray. 1912 und *O. Zacharias*, Das Plankton als Gegenstand eines zeitgemäßen biologischen Schulunterrichtes. Arch. f. Hydrobiol. u. Planktonk. I. 1906, Stuttgart. Schweizerbart.

lingen mit aufgehängten Apfelschnitten, beim Auslegen von Aas für Totengräberkäfer (Necrophorus). Zum Anlocken der Tiere, namentlich nächtlicher, kann auch eine starke Lichtquelle verwendet werden, am besten Bogenlicht.

Die positive Heliotaxis der meisten Insektenimagos wird auch mit Vorteil zum Absammeln derselben in geschlossenen Räumen verwendet, indem die Kerfe stets von den hell erleuchteten Fenstern in eine bereitgehaltene Flasche abgeklopft werden können. Überhaupt ist es beim Fange und der Hantierung von Tieren angezeigt, sich mit ihren Bewegungstendenzen[1] vertraut zu machen, und dieselben für die eigene Bequemlichkeit zu verwenden. So haben viele Insekten außer der Phototaxis noch die Tendenz, sich vom Erdboden weg gegen die höchste ihnen erreichbare Stelle zu begeben (negative Geotaxis). Solche Insekten können viel leichter in einem nach unten zu offenen Gefäß gefangen und getragen werden als in einem nach oben zu offenen.

Fig. 1.

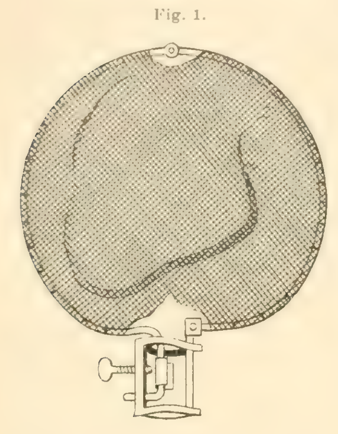
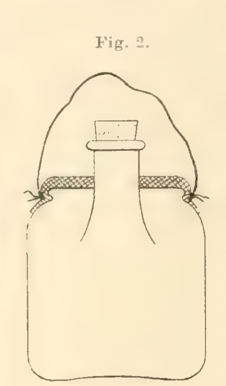


Fig. 2.



Die Konstruktion einfacher Fallen wird ebenfalls den Bewegungsgewohnheiten und Fähigkeiten der Tierart gerecht sein müssen. Die einfachsten Fallen bestehen aus einem glattwandigen Gefäße, in das ein entsprechender Köder gegeben wird (bei hoher Temperatur kann sogar Wasser als solcher verwendet werden). Die zum Köder gelangten Tiere werden durch die Glattheit der Wände am Zurückkriechen gehindert.

Um den Rückweg aus einer Falle zu erschweren, werden solche Zugänge konstruiert, die den Eintritt leicht, den Austritt aber nur sehr schwer oder gar nicht erlauben.

Am bekanntesten sind die Konstruktion der Mäusefallen mit dem nach innen gerichteten Stachelkranze ringsum die oben angebrachte Öffnung und die Fischreusen mit konisch sich verengernden Einlaufsnetzen.

Für die stechenden Hymenopteren, aber auch für Fliegen und andere Insekten sind Fanggläser praktisch, die folgendermaßen konstruiert werden (Fig. 2):

Auf ein gewöhnliches Einsiedeglas der breiten Form wird ein Karton aufgelegt und festgebunden, der ein rundes Loch hat, durch das der abgebrochene Hals einer Flasche eingesenkt wird, so daß er mit seinem

[1]) *H. Winterstein*, Handbuch der vergleichenden Physiologie. Jena, Fischer (im Erscheinen, 1912). IV. Bd. 8. „Tropismen“, bearb. v. *J. Loeb*.

etwas aufgeworfenen Mundrande auf dem Karton aufliegt. Der Flaschenmund ist durch einen Kork verschließbar. Wird die Öffnung der Flasche unter ein Insekt gehalten und das Tier durch einen leichten Schlag zum Hinabfallen gebracht, so gelangt es durch den Flaschenhals in das weite Einsiedeglas und da es nunmehr stets längs der Wände dieses Glases hinaufzufliegen sucht, so kommt es stets oben zwischen dem eingesenkten Flaschenhalse und den kartonbedeckten Rand des Einsiedeglases. Es können daher eine ganze Anzahl sich fangen, ohne daß man den Kork aufzusetzen brauchte. Nur beim Transporte oder sonstigem längeren Aufenthalte empfiehlt es sich der Vorsicht halber, doch zu verkorken.

3. Transport.

Das im Freien gefangene Tier muß zum Heimtransporte provisorisch verwahrt werden. Hierzu empfiehlt es sich, mit einer Reihe von Emballagen ausgerüstet zu sein. Diese sind:

a) Leinwandsäcke aus dichtem, aber luftdurchlässigem Stoffe, die mit einem Zugbande zugezogen und durch Umbinden der Mündung sicher verschlossen werden können (Fig. 3).

Fig. 3.



In solchen Säcken können kleine Säugetiere, Echsen, Schlangen, Schildkröten, Amphibien, Schnekken, Muscheln, Insekten, Spinnen und Krebse größerer Art, Seerosen, Seeigel und Seesterne verwahrt werden. Es ist stets für ein entsprechendes Verpackungsmaterial (Moos, Laub, Badeschwämme, Tang) zu sorgen, damit die Tiere nicht gedrückt werden oder sich gegenseitig verletzen. Manche räuberische Tiere, namentlich Heuschrecken, Käfer und Krabben müssen jedes Exemplar isoliert verwahrt werden. Hierzu können lange, schmale Säcke Verwendung finden, die nach Einsetzen je eines Stückes oberhalb desselben abgebunden werden, so daß der volle Sack ein perlschnurartiges Aussehen hat.

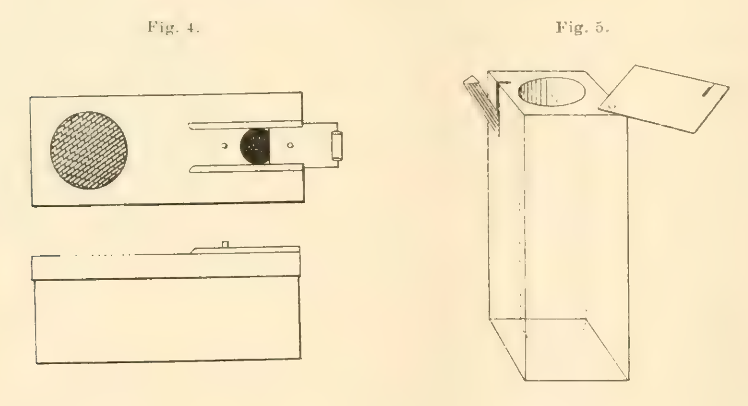
b) Fangschachteln, am besten Sätze aus ineinander gepaßten Blechkistchen, die mit einer Vergitterung und einem Einwurfschuber versehen sind (Fig. 4). Für kleinere Insekten genügen im Notfalle Pillenschachteln oder Zündhölzchenschachteln.

c) Fanggläser: für Wassertiere entweder Einsiedegläser, die mit angefeuchtetem Pergamentpapier bedeckt und zugebunden werden oder verkorkte Flaschen und Eprouvetten. Für Landtiere sind Gläser in der Regel

nicht zu empfehlen, weil sie keine Luft durchlassen. Es kommt sehr auf die Luftbedürftigkeit der einzelnen Arten an. Blattkäfer (Chrysomela) können dicht übereinander geschichtet, selbst ohne Verpackungsmaterial transportiert werden.

Von den mit üblem Geruch ausgestatteten Baum- und Schreitwanzen vermag selbst eine geringe Anzahl nicht in einem Glasgefäße einige Stunden auszuhalten. Die für stechende Hymenopteren beschriebenen Fanggläser eignen sich auch gut zum Transporte, namentlich wenn der aufzulegende Karton mit Löchern zur besseren Luftversorgung versehen wird; außerdem können diese Fanggläser ihrer Konstruktion nach längere Zeit geöffnet stehen bleiben, ohne daß die Insassen entweichen würden.

Für den Transport von Tieren auf größere Entfernungen und namentlich für den Versand mittelst Post, Bahn und Schiff kommen die eben genannten Emballagen zwar ebenfalls in Betracht, müssen aber in ein größeres Transportgefäß untergebracht werden, falls sie nicht von so ge-


Fig. 4. Fig. 5.

ringer Größe sind, daß sie als „Muster ohne Wert" versendet werden können (Fig. 5).

Als Behälter dienen:

a) Kistchen mit eingesetztem Drahtgitter als Ventilationsfenster, das übrigens bei nicht allzu kleinen Tieren oder wenn diese in den beim Fange verwendeten Säckchen oder in Gläsern verbleiben, durch Zerlegung des Kistendeckels in mehrere Leisten ersetzt werden kann, die dann nicht knapp nebeneinander aufgenagelt werden. Ferner

b) Körbe, welche zur Unterbringung mehrerer Gläser durch Geflechtwände in mehrere nebeneinander stehende Fächer geteilt sind (Fig. 6).

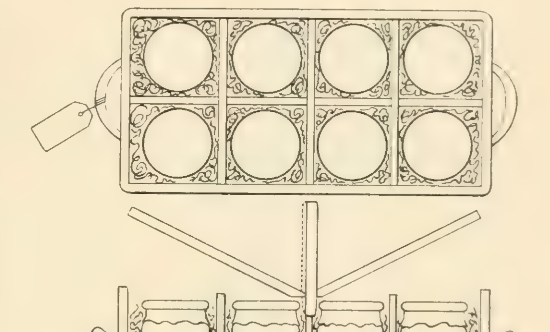
Die erste Regel für die Verpackung ist die Unterbringung der Einzelpäckchen in einer solchen Art, daß sie während des Transportes nicht durcheinander geschüttelt werden. Also genug und weiches Verpackungsmaterial: Moos, Gras, Laub, zerknülltes Seidenpapier, für Wassertiere Wasserpflanzen oder Schwämme. Säugetiere und Vögel sind die einzigen

Tiergruppen, die eine enge Verpackung nicht gut vertragen, aber auch diesen Tieren sollen in die Versandbehälter genügend Materialien hineingegeben werden, auf welchen sie gut liegen, stehen, sitzen oder an welchen sie sich leicht anhalten können. Diese Warmblüter sind nicht in den provisorischen Fangsäcken zu belassen. Alle anderen Landtiere und amphibisch lebenden Arten können mit Vorteil in den ursprünglichen Emballagen verbleiben. Mangel an Luft ist bei Versendung außerhalb des Wassers nicht zu befürchten, falls keine Glasgefäße oder dichtschließende Blechdosen zur Verwendung kamen.

Die Vorsorge für die Reise erstreckt sich außer auf die richtige Verpackung bei den Landtieren auf die Erhaltung der Feuchtigkeit, bei den Wassertieren auf die Zufuhr des Sauerstoffes.

Säugetieren und Vögeln ist ein Wasserbehälter, in entsprechender Weise in den Transportkäfig hineingeschoben oder angebunden, mitzugeben. Allen anderen außer Wasser beförderten Tieren wird genügende Feuchtigkeit durch gutes Befeuchten der Emballagen und des Verpackungsmateriales vor, eventuell auch noch während der Reise zugeführt. Futter ist wieder nur Säugern und Vögeln mitzugeben, alle anderen erwachsenen Tiere halten sich viel besser ohne Futter auf der Reise. Raupen und andere Insektenlarven müßten auf ihren Futterpflanzen oder in ihrer sonstigen natürlichen Umgebung versendet werden.

Fig. 6.



Es ist aber entschieden günstiger, die Ruhestadien: Eier und Puppen oder selbst Imagines zum Versand zu nehmen. Man beachte dabei die Zeit, welche die Eier oder Puppen zum Ausschlüpfen benötigen und die durchschnittliche Lebensdauer der Imagines.

Für die Geschwindigkeit der Entwicklung ist die Temperatur der wesentlichste Faktor. Nach der bekannten RGT-Regel erhöht sich die Geschwindigkeit für 10° C um das Zwei- bis Dreifache bei unseren gewöhnlichen Temperaturen.

Die Beachtung der Temperatur ist auch wichtig, da ja nicht alle Tiere die gleichen Grade gut vertragen: für Warmblüter, Reptilien, tropische Fische, Kopffüßler, Einsiedlerkrebse (Eupagurus Prideauxii) und Haarsterne (Antedon) sind niedrige, für fast alle anderen Tiere hohe Temperaturen gefährlich, namentlich auch wegen des raschen Austrocknens der Reisebehälter und bei Wassertieren wegen der Abnahme des Sauer-

stoffgehaltes bei steigender Temperatur, welche noch dazu den Sauerstoffverbrauch der Kaltblüter bedeutend erhöht.

Für die Bewohner der Gebirgsbäche und der größeren Meerestiefen sind Eispackungen, wobei das Eis aber nicht in, sondern um den Behälter zu legen ist, nützlich.

Um für genügende Durchlüftung der Wassertiere auf der Reise zu sorgen, empfiehlt es sich zunächst, keine zu kleinen Gläser zum Transporte zu verwenden. Für größere Mengen werden nach dem Beispiele der k. k. zoologischen Station in Triest Säureballons in Gebinden oder ausgepichte Kübel verwendet. Letztere können durch aufgenagelte Rundkufen zum Schaukeln gebracht werden, wodurch das Seewasser fortwährend in Unruhe ist und stets an der Oberfläche Sauerstoff aus der Luft aufnehmen kann. Doch ist bei dieser Art der Verschickung große Gefahr für eine Beschädigung der Insassen durch Anschlagen an die Gefäßwände vorhanden und diese Methode nur bei wenig empfindlichen Tieren empfehlenswert.

Fig. 7.



Aus demselben Grunde sollen Versandgläser fast ganz angefüllt werden. Sind die Gläser mit Pergamentpapier verbunden, so ist ein Austausch mit der Luft der Atmosphäre immer vorhanden. Bei hoher Temperatur, stets aber bei manchen sehr sauerstoffbedürftigen Wassertieren ist für eine fortwährende Sauerstoffzufuhr zu sorgen.

Der beste Apparat dieser Art ist der „Hydrobion" (Fig. 7) von *Lorenz* und *Kaltenegger*[1]), welcher aus einer Bombe komprimierten Sauerstoff durch einen Schlauch und eine poröse Durchlüftungszelle aus Ton mittelst eines Reduzierventiles unter geringem Drucke ausströmen läßt. Der Apparat wird gewöhnlich an einer Fischbutte angebracht und funktioniert mehrere Stunden bis zu zwei Tagen.

Versandvorschriften für die einzelnen Tiergruppen im besonderen sind in kleinen Flugblättern zusammengestellt, welche seitens der Biologischen Versuchsanstalt in Wien zur Ausgabe gelangt sind und von denselben (solange der Vorrat reicht) über Verlangen versendet werden.[2])

Sind die Tiere in den Transportkäfigen oder sonstigen Reisebehältern untergebracht, so muß — je nach den Bestimmungen des Aufgabs- und Ankunftslandes — die äußere Adjustierung des Paketes erfolgen.

[1]) Der Hydrobion, eine Vorrichtung für den Lebendtransport von Fischen. Zentralblatt für das gesamte Forstwesen. H. 11. Wien 1903.

[2]) *P. Kammerer*, Anleitung zum Versenden lebender Tiere. Für die biologische Versuchsanstalt zusammengestellt. Wien 1902.

Die Versendung kann in Deutschland und Österreich auf jede überhaupt für das betreffende Gewicht zulässige Beförderungsweise geschehen: per Post als Fünfkilopaket, Brief- oder Muster ohne Wert-Sendung, per Bahn und Schiff als Personen-, „Sperr"-, Eilgut-, Frachtsendung. Natürlich ist stets die kurzfristige Beförderung vorzuziehen. Besonders rasche Zustellung wird durch „Expreß"aufgabe erzielt: hierbei ratsam nicht an eine Einzelperson, sondern an ein Institut oder eine Familie zu adressieren, weil Expreßsendungen oft bloß an den ausdrücklich auf der Adresse Genannten ausgefolgt werden und wenn dieser zufällig nicht zu Hause ist, wieder zur Post zurückgenommen oder an eine etwa dieser noch bekannte Adresse weitergegeben werden. Rekommandieren der Sendungen hat nach meinen persönlichen Erfahrungen eher eine Verzögerung des Transportes zur Folge und wird daher nur bei besonders kostbarem und dabei widerstandsfähigem Materiale zu verwenden sein.

Die Behandlung von Tiersendungen pflegt auf den Transportmitteln eine gute zu sein, da die lebenden Tiere Interesse und ein gewisses Mitgefühl erwecken.

Es empfiehlt sich daher stets, auch Inhaltsangabe und Behandlungsanweisungen auf die Adresse zu setzen, wie „lebende Tiere", „oben", „nicht warmstellen" oder „nicht kalt halten", „Vorsicht" usf.

Da die Vorschriften für die Adjustierung der Pakete fast überall verschieden gehandhabt werden, so erkundige man sich vor der Aufgabe an dem gewählten Post- oder sonstigen Verkehrsamt, um zweimalige Wege mit den Paketen zu ersparen. Um Zoll und Verzehrungssteuer zu ersparen, hat die Deklaration als „Tiermaterial zu wissenschaftlichen Zwecken" zu erfolgen. Auch ist es üblich, Fische als „befruchteten Fischlaich" zu deklarieren, wodurch die Zollbehandlung erleichtert wird.

Nicht alle Staaten nehmen lebende Tiere zur Postbeförderung an (z. B. England und seine Kolonien), andere (Italien) schließen giftige Tiere aus.

III. Haltung.

1. Unter günstigen Bedingungen.

Von größter Wichtigkeit für das Gedeihen des lebenden Materiales ist es, sogleich bei Ankunft desselben an seinem Bestimmungsorte günstige Bedingungen anzutreffen. Oft und oft habe ich es erlebt, daß ein wertvolles Material ungenutzt verloren ging, weil es bei seinem Eintreffen „vorläufig" in den Transportbehältern oder sogar ausgeschüttet in noch ungeeigneteren Gefäßen belassen wurde, „da es noch zu keinem Versuche aufgestellt war". Stets soll man sich vor Augen halten, daß Tiere Lebewesen sind und daher nicht wie irgend ein lebloses, chemisches Material vorerst in das Depot gestellt werden dürfen. Weiß man, daß zu einer Zeit bestimmte Tiere eintreffen, so ist es das allerbeste, bereits vorher Behälter mit allem Nötigen ausgestattet vorbereitet zu halten; in einem

größeren Institute werden alle verschiedenartigen Behälter für jeden Fall in einer Reserveanzahl vorhanden sein müssen.

Es empfiehlt sich, alle Tiere, welche nicht sogleich verarbeitet werden, zunächst unter günstigen, dem Freilandleben ähnlichen Bedingungen zu halten, ehe sie zu Versuchen aufgestellt werden, da auf diese Art eine etwa durch den Transport entstandene Schwächung wieder gut gemacht und die Organismen in die Gefangenschaft allmählich eingewöhnt werden können. Wir besprechen daher zunächst die Aufstellung und Pflege ohne Rücksicht auf irgend welche besonderen Versuchsprogramme, bloß nach den Bedürfnissen der Tiere.

Wir haben uns mit:

a) der Wohnung und Durchlüftung,

b) Beheizung und Beleuchtung,

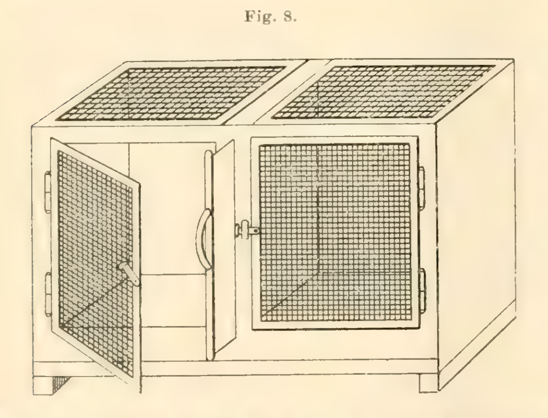
c) Futter und Trank,

d) Reinigung und Körperpflege zu befassen.

a) Wohnung und Lüftung.

Die Wohnung, welche wir den erwarteten Gästen zuweisen, besteht aus dem Wohnbehälter und seiner inneren Einrichtung. Beide haben sich den Luft- und Bewegungsbedürfnissen der Insassen anzupassen. Der Wohnbehälter muß ganz allgemein eine genügende Größe besitzen, um die gewünschte Anzahl von Einwohnern ohne ihre Schädigung beherbergen zu können. (Eine Liste verwendbarer Rauminhalte für niedere Tiere bis einschließlich Insekten findet sich im Tätigkeitsberichte der biologischen Versuchsanstalt in Wien [1] nach den Aufzeichnungen von *P. Kammerer*.)

Fig. 8.

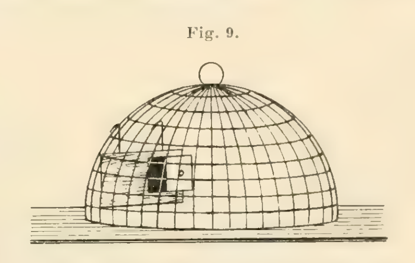


Für größere Säugetiere und Vögel sind stallartige Käfige mit Ausläufen und Volieren unbedingt notwendig; kleinere Arten lassen sich aber bequemer in transportablen Käfigen halten. Für Ratten genügen Behälter von 1 *m* Länge, 50 *cm* Breite und Höhe vollständig für mehrere Familien. Diese Rattenkäfige sind entweder aus Eisen (Fig. 8) oder durchlochtem Blech oder ganz aus Drahtgeflecht und besitzen wenigstens eine gut schließende Türe. Günstig für das Manipulieren namentlich mit wilden Tieren

[1] Die biologische Versuchsanstalt in Wien. Zweck, Einrichtung und Tätigkeit während der ersten fünf Jahre ihres Bestandes (1902—1907), zusammengestellt von *Hans Przibram*, Zeitschr. f. biol. Techn. u. Method. I. 1910. Die Fortsetzung für höhere Tiere ist im nächsten Berichte (1908—1912) beabsichtigt.

ist die Abteilung des Käfigs durch eine Schubtüre und die Anbringung je einer Türe an jedem solchen Abteil. Es lassen sich dann die Tiere leicht von einer Abteilung in die andere treiben und absperren, so daß die leergewordene Hälfte des Käfigs gereinigt oder anderen Manipulationen unterworfen werden kann, ohne daß eine Behinderung durch die Tiere stattfinden oder ein Entweichen dieser eintreten könnte. Für Mäuse genügen einfachere Käfige; für eine Familie (nach *Durham*) selbst runde, den gewöhnlichen Mäusefallen ähnliche Drahtgeflechte, welche auf einen Blechuntersatz gut schließend aufgestellt werden (Fig. 9). An eine Stelle der Drahthaube ist im Innern ein kleines Kistchen angehängt, in das die Mäuse bei Beunruhigung ihre Zuflucht nehmen. Sind alle Insassen auf diese Weise unsichtbar geworden, so wird die Drahthaube abgehoben und auf die Tischplatte gestellt, während der Untersatz gereinigt und sonst manipuliert werden kann. Auch Rattenkäfige können in analoger, nur größerer Ausführung hergestellt werden (nach *Haagedoorn*), wobei eine längliche Form leichter in größerer Anzahl untergebracht werden kann. Da diese größeren Drahtbehälter ziemlich schwer sind und die Ratten nicht so leicht wie Mäuse durch die kleinsten Lücken entweichen, so können die Drahtkäfige direkt auf einen Zementboden aufgestellt werden, was für die Reinigung mit Besen und Wasser ein großer Vorteil ist. Der größte Nachteil dieser Art Käfige besteht aber darin, daß sie nicht übereinander aufgestellt werden können; es scheint mir auch fraglich, ob nicht doch das Entweichen von Ratten durch sie erleichtert ist.

Fig. 9.



Für andere, kleine Säugetiere sind dieselben Behälter, wie für Ratten und Mäuse nur in den entsprechenden Dimensionen, für Kletterer (Bilche, Hörnchen) mehr hoch als lang, für Läufer und Springer (Springmäuse) mehr lang als hoch, praktisch; handelt es sich um Tiere, die nicht nagen (Igel, Spitzmaus), so können Boden und ein Teil der Wände auch aus Holz bestehen; bei grabenden Tieren (wildes Kaninchen, Maulwurf) vergesse man nicht, eventuelle Ausläufe im Freien in einer bestimmten Tiefe zu betonieren!

Die Konstruktion der gebräuchlichen Vogelkäfige braucht nicht erst beschrieben zu werden; für wissenschaftliche Zwecke sind die einfachsten Drahtgitterhäuschen am zweckdienlichsten.

Für kaltblütige Tiere kommen als Wohnhäuser in Betracht: I. das Terrarium, falls es sich um Land-, und II. das Aquarium, falls es sich um Wasserbewohner handelt, ferner III. Insektarien, welche hauptsächlich den Luftraum abgrenzen, in dem sich die Insekten bewegen oder den verborgen lebenden genügenden Erdraum lassen. Jede dieser drei Wohnungsarten kann wieder entweder unbeweglich im Freien oder Haus untergebracht sein oder einen beweglichen Behälter darstellen.

I. Das Terrarium.

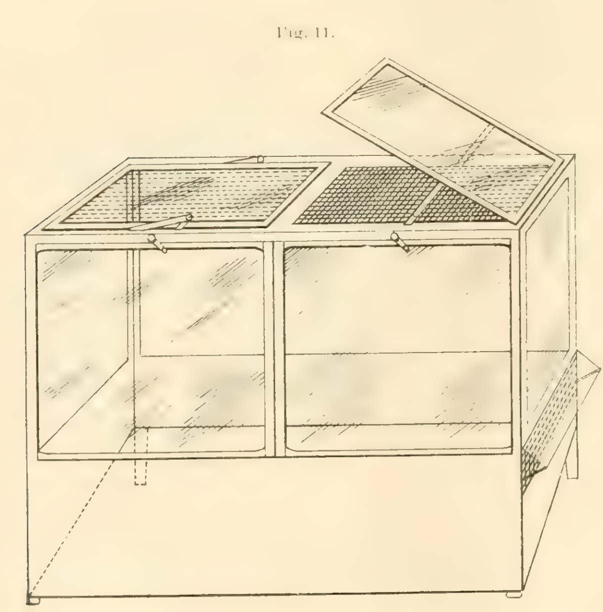
Das Terrarium, welches als „Freilandterrarium“ in den Bodengrund eines Gartens oder Hofes direkt eingelassen erscheint, wird durch Ausgrabung und Betonierung der Sohle und der Wände hergestellt (Fig. 10).

Die Sohle soll etwas schief nach einer Stelle zu abfallen und daselbst mit einem Wasserablaufe versehen sein. Der obere Rand der ganzen Vertiefung wird von einem nach innen vorspringenden, rund nach abwärts gekrümmten Bleche bedeckt, das den Zweck hat, Tiere, welche im Innern längs der Wand emporgeklettert sind oder durch Springen die Mauer zu übersetzen suchen, am Entkommen zu verhindern. Ein Wasserzulauf, der von außerhalb des Terrariums zu betätigen ist, erspart viel Arbeit des Wasserzutragens.

Fig. 10.



Fig. 11.



Für größere Mengen von Reptilien und Amphibien, auch Schnecken, welche unser Klima vertragen, sind diese Freilandterrarien besonders zur Zucht gut verwendbar. Sonst wird man die beweglichen Terrarien vorziehen, deren zweckmäßige Bauart *Kammerer* [1]) angegeben hat (Fig. 11).

Ein viereckiges Eisen- oder bei kleineren Terrarien Zinkblechgestell ist bis zu einer gewissen Höhe solid und dient zur Aufnahme der Bodenfüllung; die Bodenfläche selbst senkt sich von der hinteren zur vorderen Längswand im Winkel von 20 Grad, und um das Terrarium trotzdem ge-

[1]) Vgl. außer dem erwähnten Berichte der Biolog. Versuchsanstalt *P. Kammerer*, Das Terrarium und Insektarium. Leipzig, Th. Thomas, 1911.

rade aufstellen zu können, steht es rückwärts auf hohen, vorn auf niedrigen Füßen. In der rechten vorderen Ecke ragt ein kurzes Rohr mit Ablaufhahn oder sonstigem Ablaufverschluß (an einem Kettchen hängende Metallklappe) nach außen, welches dem Grundwasser den Abzug gestattet. Über dem Metalluntersatz erhebt sich das Terrariumgestell als ein Gerippe aus Metalleisten, in welche Glastafeln eingekittet werden, und zwar sind die Längswände ganz verglast, wobei sich die vordere Längswand aber in Form von zwei gut schließenden Türen öffnen läßt. An den Breitseiten reicht die einheitliche Verglasung nicht bis zum Untersatz herab, sondern läßt für die Anbringung eines engmaschigen Drahtgeflechtstreifens Platz.

Diese Streifen können durch eine verglaste Klappe verschlossen werden, wenn der Luftzutritt von außen verhindert werden soll, sonst dienen sie als Ventilation namentlich der Bodenschichten. In ganz ähnlicher Weise ist das Dach des Terrariums für Ventilation oder Abschluß eingerichtet. Alle Klappen haben Haken zum Aufspreizen, um ihr Herabfallen aufzuhalten, wenn sie offen bleiben sollen.

Insbesondere alle aus Eisen bestehenden Teile der Terrarien sind mit einem mehrfachen gegen Verrostung schützenden Anstrich zu versehen; blanke Metallteile sind in der Regel schon wegen der starken Wärmestrahlung zu vermeiden.

Praktisch bewährte Größen für die eben geschilderten Terrarien sind Länge 60, Breite 35, Höhe 50 *cm* oder halb so große von ähnlichen Größenverhältnissen.

Zur Einrichtung der Terrarien gehört zunächst die Bodenfüllung, welche aus mehreren Schichten Kies besteht, dessen Feinheit von unten nach oben zunehmen soll, um eine bessere Drainage zu ermöglichen. Über den Kies werden dann je nach der gewohnten Umgebung der unterzubringenden Tierart Sand, Humus-, Lehm-, rote Erde, Kalk- oder Quarzsteine aufgeschüttet und für Bepflanzung gesorgt.

Pflanzen, welche nicht lange aushalten, sind nicht direkt in den Grund, sondern in Töpfen einzusetzen, die bis zu ihrer Mündung in den Boden eingesenkt werden.

Auf diese Art wird den Tieren der Übergang vom Boden auf die Pflanzen erleichtert und trotzdem eine Auswechslung der Pflanzen rascher durchgeführt werden können.

Wo es auf die Art der Pflanzen nicht ankommt, sind die anspruchlosesten zu bevorzugen, welche als „grüne Topfgewächse“ bekannt und überall um geringes Entgelt erhältlich sind.

Zur Ausrüstung des Terrariums gehören endlich Futter- und Wassernäpfchen, deren Wände nie so steil sein sollen, daß hineingelangende Tiere nicht mehr den Ausweg finden, und deren Eintiefung bis zum oberen Rande in den Boden den Tieren ihre Benützung wesentlich erleichtert. In steilwandigen glatten Wasserbecken ertrinken nicht bloß Insekten, sondern auch Echsen und junge Nagetiere sehr leicht.

II. Das Aquarium.

Jeder Teich oder zementierte Wasserbehälter im Freien kann als Aquarium benutzt werden. Wenn die zu haltenden Tiere reine Wasserbewohner sind, so sind bloß die Ablaufsverhältnisse zu regeln, damit nicht die Tiere fortgespült werden können. Für Amphibien und amphibisch lebende Reptilien oder andere flugunfähige Tiere muß eine entsprechende Einfriedung gemacht werden. Sind die Wände des Behälters glatt und steil, so daß diese Tiere nicht aus ihnen durch ihre eigenen Bewegungsmittel herauskommen könnten, so läßt sich eine eigene Einfriedung ersparen, indem den Landbedürfnissen der Inwohner durch Anlage einer Insel oder eines schräge über den Wasserspiegel aufsteigenden Strandes Rechnung getragen wird.

Zur Anlegung größerer, unbeweglicher Aquarien im Freien oder im Hause dient am besten Zement oder Beton (Fig. 12 *d*). Sollen Glasscheiben *(c)* eingesetzt werden, so ist eine direkte Verbindung des Glases mit den genannten Materialien sowie auch mit den eventuell verwendeten Eisenrahmen *(a)* zu vermeiden, weil sonst Sprünge im Glase bei allen Temperaturschwankungen unvermeidlich sind. Die Scheiben werden am besten zunächst auf Glaserkitt *(b)* eingesetzt und alle Fugen zwischen der Zementierung und dem Rahmen mit flüssigem Asphalt *(e)* ausgegossen. Sickert bei großen Becken trotz vorsichtiger Einsetzung der Tafeln etwas Wasser durch oder stellen sich nachträglich Haarrisse in der Zementierung ein, so kann durch Aufstreichen von Gipsmehl selbst bei vollgefülltem Aquarium von außen her die Sickerung wieder zum Stillstand gebracht werden.

Fig. 12.

Dieser Prozeß soll so lange wiederholt werden, bis die anfänglich noch weichbleibende Gipsmasse schließlich ganz erhärtet und weiteres Sickerwasser nicht mehr durchläßt. Solche Reparaturen widerstehen selbst dem Drucke einer 1 *m* hohen Wassersäule viele Jahre hindurch.

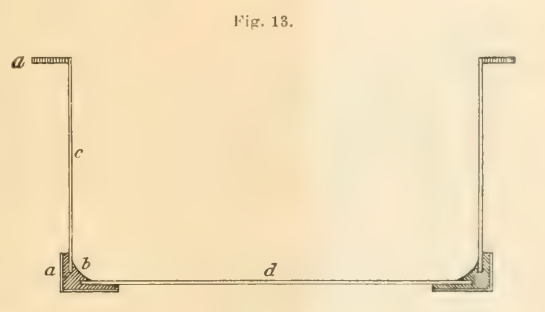
Um in großen Aquarien, welche nicht von vorneherein mit betonierten Abteilungsfelgen zum Einschieben von Glasscheiben versehen sind, Tiere isolieren zu können, kann man sich (nach dem Vorgange der Neapler Station) durchlochter Zelluloidplatten[1]) bedienen, welche mit Azeton zu Kästchen zusammengeschweißt und in den großen Aquarien schwimmend

[1]) Erhältlich bei Megerlin in Köln a. Rh.

oder ganz eingetaucht mit entsprechendem Deckel angebracht werden. Namentlich für fließendes Seewasser ist dies fast die einzige mögliche Methode, um ökonomisch zu arbeiten.

Kleinere, transportable Aquarien[1] werden gewöhnlich aus starkem Eisen (Fig. 13 *a*) angefertigt, das entweder den Boden und drei Seitenwände voll ausfüllt und bloß in der Vorderwand eine Glasplatte eingesetzt erhält, oder bloß in einem Eisengestelle besteht, dessen sämtliche Seiten ebenso wie der Boden zur Aufnahme einer Glastafel bestimmt sind. Bei der letzteren Konstruktionsart ist eine besondere Vorsicht beim Zusammenschluß der Wandtafeln *(c)* und des Bodens *(d)* zu verwenden. Schließen dieselben nämlich von allen Seiten zu dicht an die Bodenplatte an, so kann sich diese bei Temperaturzunahme nicht weiter ausdehnen und springt daher. Sollen Aquarien ausschließlich für Süßwasser Verwendung finden, so ist es daher praktisch, die Seitenwände ganz getrennt von der Bodenplatte einzusetzen. Beim Seewasseraquarium bietet das direkte Zusammenschließen der Glasplatten insoferne einen Vorteil, als dann das Meerwasser nicht mit dem Eisengerüste in direkte Berührung kommt, was, wie wir noch hören werden, auf jeden Fall zu vermeiden ist. Man schafft Abhilfe durch gute Minisierung und Anstrich des Eisens und besonders dadurch, daß eine sehr breite Kittauflage verwendet wird, in die von beiden Seiten her Boden- respektive Seitentafeln eingedrückt sind, ohne sich direkt zu berühren.

Fig. 13.



Seewasser greift alle Materialien mehr an als Süßwasser, und vermag auch Aquarien, die „süßwasserdicht" erscheinen, zu verlassen; daher muß man sich stets von der „Seewasserdichtigkeit" der für marine Organismen zu verwendenden Behälter überzeugen.

Um rasch und billig größere Seewasserbehälter herzustellen, kann man nach *Coris* Vorgang Holzbottiche austeeren und mit Süßwasser auslaugen.

Holz ist nie ohne weiteres als Aquarium zu verwenden, da es stets schädliche Teile abgibt.

Am sichersten sind endlich in bezug auf ihre Dichtigkeit und Unschädlichkeit Glasbehälter aller Größen und Formen, von den Petrischalen und Trinkgläsern angefangen bis zu den großen Akkumulatorengläsern. Ihr Nachteil besteht bloß in der Zerbrechlichkeit des Materiales. Es emp-

[1]) Ausführliche Schilderungen der Aquarientechnik enthält *E. Bade*, Praxis der Aquarienkunde. Magdeburg, Creutz, 1899; Das Süßwasseraquarium. 3 Aufl. Berlin. Pfenningstorff; Das Seewasseraquarium. Magdeburg, Creutz, 1906.

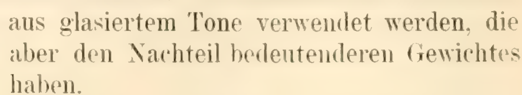
fiehlt sich, Glaswannen stets auf Filz oder mehrfacher Filtrierpapierunterlage zu stellen und eine schiefe Stellung zu vermeiden, um das Springen tunlichst hintanzuhalten.

Für die meisten kleineren Wassertiere, bis zu den Amphibien hinauf, sind Einsiedegläser (Fig. 14) die billigsten und bequemsten Behälter. Nur bestehe man beim Bezuge darauf, daß die Mündung *(a)* jedes einzelnen Glases so weit sei, daß sie die menschliche Hand durchlasse.

Wird eine große Anzahl (über 50) Einsiedegläser gebraucht und kommt es dabei nicht auf die Lieferzeit an, so bestelle man bei einer Glasfabrik oder deren Niederlage die gewünschte Sorte, welche im Verhältnis zu den gebräuchlichen 1—3 Litergläsern einen größeren Durchmesser mit entsprechend bequemerer Mündung besitzt *(b)*.

Kommt es auf die Durchsichtigkeit der Wandung nicht an, so können zur Vermeidung von Bruch an Stelle von Glaswannen Tonbecken aus glasiertem Tone verwendet werden, die aber den Nachteil bedeutenderen Gewichtes haben.

Fig. 14.



Zum Verschlusse der Mündung von Einsiedegläsern oder Wannen ist ein nicht rostendes Drahtgeflecht am geeignetsten, das über den Rand hinuntergreifen soll.

Die Einrichtung des Aquariums besteht aus dem Grundbelage und aus der Wasserfüllung. Die erstere richtet sich nach dem Standorte der einzusetzenden Tiere, er wird also Fluß- oder Meersand, Kies, Felsstückchen, Korallen und Schwämme, eingesetzte Wasserpflanzen, Rohr und Hölzer enthalten können. Schwämme sind am besten nicht im lebenden Zustande, sondern als gut gereinigte Badeschwämme, wie wir sie zur Reinigung gebrauchen, zu verwenden. Holzstücke müssen längere Zeit im Wasser gelegen sein, um „wasserfähig" *(Megušar)* zu werden, d. h. nicht schädlichen Einfluß auszuüben.

Die Füllung des Aquariums geschieht entweder mit Süßwasser oder mit Seewasser, in seltenen Fällen, für Tiere der Flußmündungen, mit Brackwasser, das aus einer Mischung dieser beiden Wassersorten hergestellt wird.

Süßwasser kann in der Regel aus jeder zum Nutzgenuß des Menschen eingerichteten Leitung entnommen werden. Stark phosphathaltiges Grundwasser und Regenwasser ist meist zu vermeiden. Zuführende Rohre können aus Eisen, Hähne und Wechsel aus Messing sein. Ein gleiches gilt für die Ablaufvorrichtungen. Es pflegt günstiger zu sein, den Abfluß nicht in der Bodenhöhe, sondern in der Niveauhöhe des Wassers anzubringen. Er wird durch ein Siebblech gegen das Eindringen von Tieren und Pflanzen geschützt.

Glaswannen oder andere kleine Aquarien ohne eingebauten Abfluß können für Durchfluß unter Verwendung von Abflußsiphonen eingerichtet

werden. Der einfachste Abflußsiphon (Fig. 15) besteht aus einem doppelt gekrümmten Heberrohr, das an einer Stelle ein kleines Luftloch trägt. Durch Ansaugen wird das Rohr mit Wasser gefüllt und dieses strömt dann von selbst nach, sobald es im Aquarium das Niveau des Luftloches erreicht hat. Der in das Aquarium eingehängte Schenkel des Hebers wird mit Organtin oder Drahtgeflecht verbunden, um das Entweichen der Tiere zu verhindern.

Für ganz große, eingebaute Aquarien kann das Abzughebersystem mit großem Vorteil zur Entleerung verwendet werden (Fig. 16). Dabei läßt man den einen Schenkel des Abzugsrohrs bis nahe an den Grund des Beckens hinabreichen, während der andere tiefer als der Aquariumboden hinabreicht. Außerhalb des Aquariums befindet sich ein Ansaugröhrchen an der höchsten Stelle des Ablaufrohres. Dieses Röhrchen kann, nachdem der Abfluß mit Wasser gefüllt wurde, durch

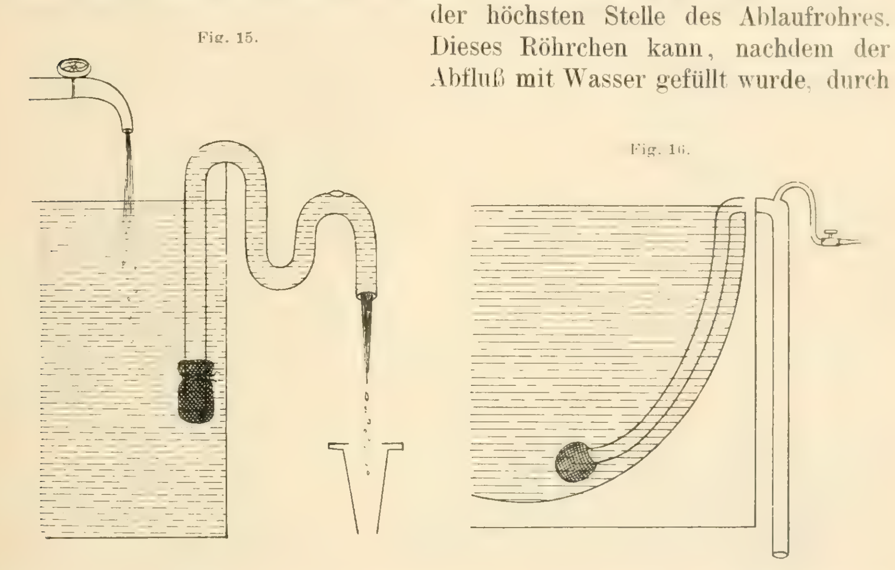


Fig. 15.

Fig. 16.

einen Hahn verschlossen werden, und nun entleert sich das ganze Wasser bis auf einen ganz geringen Rest selbsttätig.

Mehr Sorgfalt als die Süßwasserleitung erfordert die Seewasseranlage.

Hier müssen alle Metalle, mit Ausnahme von Blei und Zinn, namentlich aber Eisen und Kupfer, sowie seine Legierungen Messing, Bronze, Phosphorbronze, Aluminiumbronze usf. durchaus vermieden werden. Die Leitungsrohre dürfen daher nur aus Blei oder aus innen verzinntem Blei bestehen.

Hähne und Wechsel sind aus Hartblei, noch besser aus Ebonit zu wählen. Hartgummihähne (Fig. 17) größerer Dimensionen sind bei August Kibele & Co. (Wien, IV., Paniglgasse 18) erhältlich. Die Befestigung dieser Hähne an den Rohren geschieht durch Aufbeulung des Rohrendes, in das der Ebonithahn etwas eingeschoben wird und Umhüllung dieser Stelle

durch eine Kautschukmanschette, die mit Darmsaiten fest aufgebunden wird. Die Öffnung und Schließung des Hahnes erfolgt mittelst eines Vierkantenschlüssels *(a)*. Kleine Hartgummihähne werden in allen einschlägigen Handlungen verkauft und haben bereits Handhaben aus Hartgummi, so daß eigene Schlüssel hierzu nicht nötig sind.

Eine komplette Seewasseranlage für zirkulierendes Seewasser besteht außer den Becken und Leitungen aus einem zementierten oder aus ausgepichtem Holze bestehenden Reservoir, das in einer größeren Höhe als das Niveau der Becken angebracht ist, so daß das Seewasser allmählich in diese abfließen kann. Aus den Becken fließt das Seewasser in Filter, welche (nach *Cori*) aus je einem Zementtroge (Fig. 18, *a* Längs-, *b* Querschnitt) bestehen, der in zwei ungleich große Kammern geteilt ist. In die größere strömt das gebrauchte Wasser von oben herein, passiert die Filtrierlagen und tritt durch ein nahe dem Grunde gelegenes Loch in der Scheidewand der Kammern in die kleinere Kammer ein, woselbst es wieder durch Filterlagen aufsteigt, um dann durch ein Abflußrohr nahe seiner oberen Mündung in die zementierten, dunkel zu haltenden Lagerzisternen abzufließen.

Fig. 17.

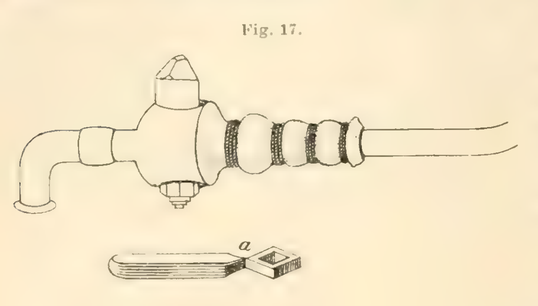
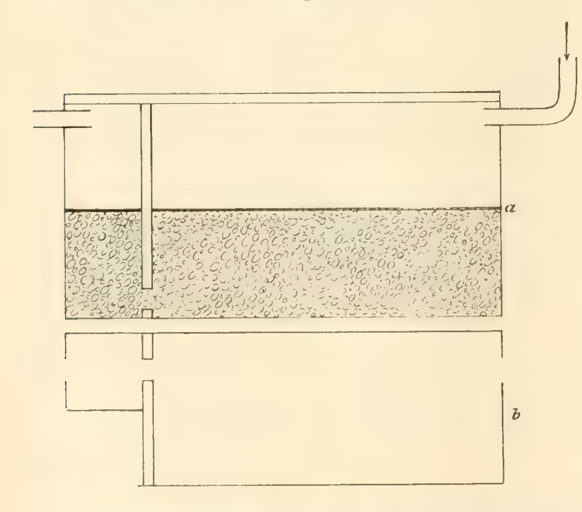


Fig 18.



Die Filtrierböden sind von unten nach oben mit Lagen von grobem, feinem Kies und durchlochten Schieferplatten bedeckt. Der ganze Filterkasten ist durch einen Holzdeckel vor dem Verstauben zu schützen. Es ist günstig, zwei Zisternen zum Ablagern des Seewassers zu haben, damit die eine stets ruhen kann, während aus der anderen, bereits geklärtes Wasser führenden das benötigte Quantum Seewasser, welches aus dem Reservoir abgeflossen ist, wieder in dieses hinaufgefördert werden kann. Diese Beförderung geschieht durch eine Pumpe, bei welcher wieder jeder Kupferteil, womöglich auch jeder Eisenteil vermieden werden soll.



Gelangt bloß stehendes Seewasser[1] zur Verwendung, so ist das Reservoir unnötig und eine Füllung der Becken kann direkt mittelst der Pumpe erfolgen.

Für kleinere Mengen zirkulierenden Wassers läßt sich übrigens mittelst elektrisch betriebener Pumpe auch bei fortgesetztem Betriebe des Motors das Reservoir vermeiden.

Die Beschaffung des Seewassers erfolgt entweder durch Bezug natürlichen Meerwassers, worüber die nächstliegende biologische Meeresstation Auskünfte zu erteilen imstande ist, oder durch Auflösung von Meersalz in Süßwasser. Die erstere Methode ist für das einfache Halten der Seetiere entschieden vorzuziehen, da es die recht umständliche Bereitung des künstlichen Seewassers erspart und bei den wenigstens in Deutschland und Österreich bestehenden besonders ermäßigten Frachtsätzen für Seewasser und leere Fässer nicht höher zu stehen kommt als das Seesalz allein. In Staaten, welche ein Salzmonopol eingeführt haben, ist für den Bezug von Seesalz ebenso wie für jenen für Seewasser eine Bewilligung der zuständigen Finanzbehörde einzuholen, die für wissenschaftliche Zwecke zu erlangen keine Schwierigkeit bietet.

Für sehr großen Bedarf stellt sich der Transportpreis viel billiger, wenn ganze Waggonladungen bezogen werden, die aus 20 Fässern zu je 500 *l* Inhalt[2]) bestehen.

Die Fässer sind innen gut zu reinigen und zu dichten, können dann mehrmals zum Transporte verwendet werden.

Kleine Mengen Seewasser sind am leichtesten in Säureballen mit Strohpackung in Geflechtkörben zu beziehen.

Eine große Sendung Seewasser genügt jahrelang für den Bedarf einer Aquarienanlage, wenn es von Zeit zu Zeit nach Filtrierung dunkel lagern kann. Der mit der Verdunstung zunehmende Salzgehalt wird durch Zusatz von Süßwasser wieder ausgeglichen. Bei stehendem Wasser kann dies sehr leicht durch Ergänzung der Wassermenge auf das durch eine Marke bezeichnete ursprüngliche Niveau im Aquarium bewerkstelligt werden. Sind wiederholt Wassermengen ohne Anbringung einer neuen Wasserstandsmarke entnommen worden, oder bei fließendem Seewasser benützt man ein Aräometer zur Messung der Dichte und ergänzt das Wasser durch Süßwasser so lange, bis das Aräometer bis zum gewünschten Striche einsinkt. Die käuflichen Seewasseraräometer haben oft diesen Strich durch rote Farbe hervorgehoben. Doch ist nicht jedes Seewasser von Natur aus gleich schwer, sondern es schwankt seine Dichte je nach dem Ursprungsorte.

Die Versorgung der Aquarien mit frischem Sauerstoff geschieht bei strömendem Wasser durch die von demselben mitgebrachten und mitge-

---

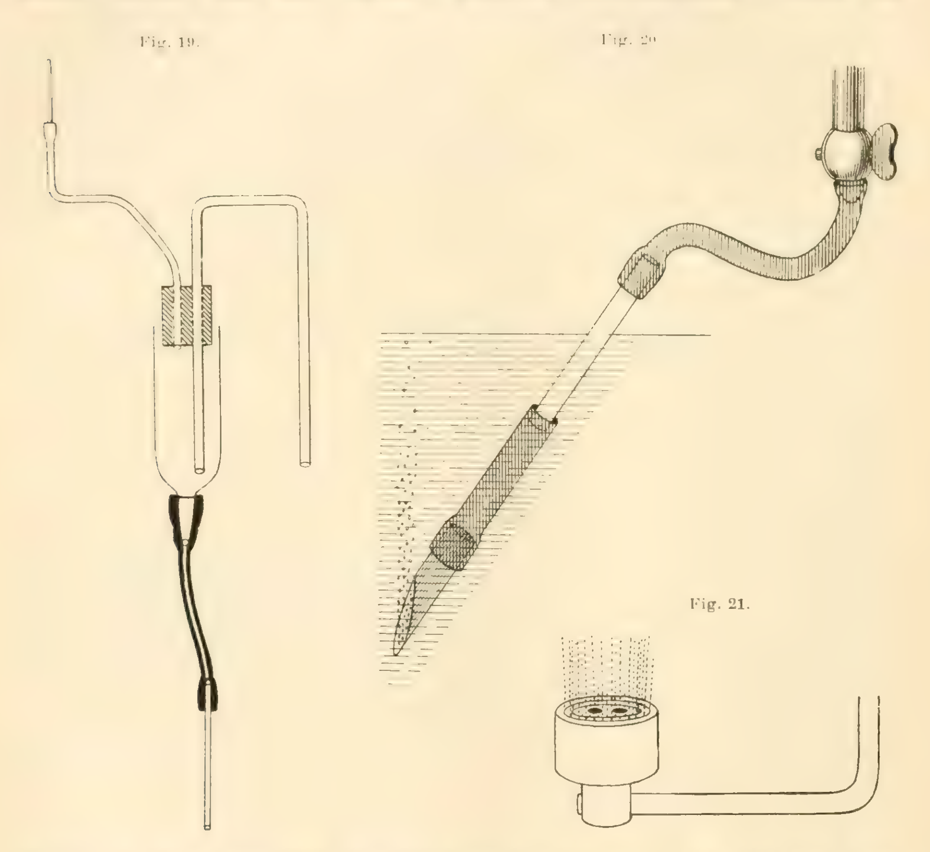
[1]) Vgl. den Abschnitt „Durchlüftung" weiter unten.

[2]) Ein Hektoliter natürliches Seewasser kommt auf diese Art in Wien auf 2·2 K (= 1·8 Mk.) zu stehen.

rissenen Luftblasen, bei stehendem durch Wasserwechsel. Einbringung lebender grüner Pflanzen oder eigene Durchlüftungsanlagen.

Wasserwechsel soll nicht durch plötzliches Umgießen des Aquarieninhaltes, sondern durch allmähliches Abhebern (Fig. 19) des Wassers und allmählichen Zusatz frischen Wassers geschehen. Das frische Wasser entnimmt man nicht der Leitung, sondern einer tagsvorher im gleichen Raume aufgestellten und gefüllten Kanne.

Um das vom strömenden Wasser mitgerissene Luftquantum zu erhöhen, bedient man sich eigener, gläserner Einflußansätze, welche das



Wasser in einem scharfen Strahle einspritzen lassen. Die Wirkung kann noch dadurch erhöht werden, daß die Einlaufvorrichtung durch einen langen Zylinder geführt wird, der beiderseits offen bis über das Wasserniveau reicht.

Praktischer, und bei stehendem Wasser meist unentbehrlich, sind eigene Durchlüfter, welche Luft ohne Wasser in die Becken einströmen lassen. Die Einströmungskörper für die Luft bestehen aus Glasröhrchen, Gummischläuchen oder Metallhülsen, in deren in das Aquarium tauchende Ende der eigentliche Ausströmungskörper fest eingeschoben ist. Dieser

besteht aus schiefabgeschnittenem Bambus (Fig. 20) oder einem ähnlichen luftdurchlässigen Materiale.

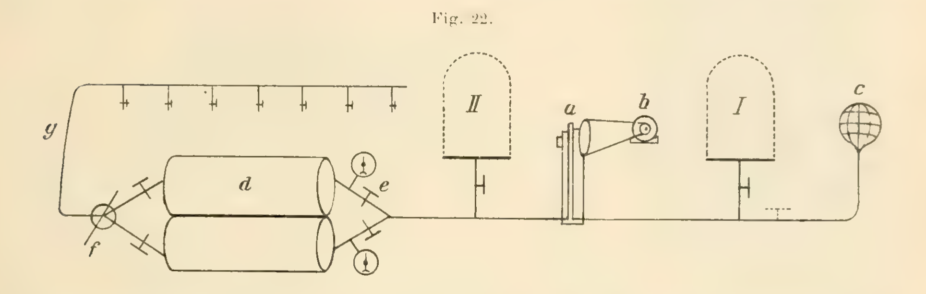
Auch Ausströmungskörper aus Gummi (*Zwiess*, *Steinach*, Fig. 21) sind konstruiert worden, aber bloß für Seewasser empfehlenswert, da im Süßwasser keine feine Verteilung der ausströmenden Luft erreicht werden kann.

Um die Luft in die Ausströmungskörper einzupumpen, dienen verschiedene Vorrichtungen, je nachdem als Betriebskraft Uhrwerk, Schwerkraft, Wasser, Elektrizität oder eine andere Kraft verwendet werden soll. Uhrwerk, das zur allmählichen Senkung einer Gasometerglocke dient, ist nur für ganz kleine Mengen Luft verwendbar.

Ein gleiches gilt für jene Durchlüfter, wobei das Abfließen einer Wassermenge von einem Gefäß in ein niedriges benutzt wird, indem jene aus einer dazwischen geschalteten Flasche Luft verdrängt.

Die beste Anlage für mittleren Bedarf ist gegenwärtig der Durch-

Fig. 22.



lüftungsapparat von *Krebs*, welcher leicht an jede Wasserleitung angebracht werden kann, wobei ausfließendes Wasser schon in sehr geringer Menge durch abwechselndes Umschlagen einer Metallzunge in einer und der anderen Richtung Luft ansaugt und wieder verdrängt.

Für große Aquarienanlagen empfiehlt sich eine Durchlüftung (Fig. 22, Schema), welche durch Aufstellung von Windkesseln und Verwendung von komprimierter Luft von einem Versagen der Betriebskraft oder deren Bewachung während der Nachtstunden unabhängig macht. Eine Kompressionsluftpumpe *(a)*, welche durch Elektromotor *(b)* oder eine andere, gerade verfügbare Kraft, betrieben werden kann, saugt Luft aus dem Freien (*c* Saugkorb) zunächst in zylindrische Stahlkessel *(d)*, deren jeder bis fünf Atmosphären Druck auszuhalten vermag und für sich abgesperrt *(e)* werden kann. Von den Kesseln kann nur die komprimierte Luft zu einem Reduzierventil (*f*, am besten erhältlich bei *Dräger*, Hamburg) abgelassen werden, das auf den je nach dem zu bewältigenden Wasserstande der Aquarien notwendigen Atmosphärendruck automatisch reduziert. Für 1 *m* tiefe Aquarien ist ein Überdruck von 0·2 noch hinreichend.

Als Leitungsrohre *(g)* können Eisenröhren verwendet werden, da die zuströmende trockene Luft das Eisen nicht angreift, doch sind in der

Leitung Entwässerungshähne anzubringen. Über den Becken, am besten auch im übrigen Verlaufe sind die Leitungen aber vor dem Verrosten gut zu schützen. Für Seewasseranlagen empfiehlt *Cori* (Zool. Station Triest) Aluminiumkopallack, der sehr nett aussieht und ausgezeichnet hält (zehn Jahre und mehr ohne Erneuerung).

Die Größe der zu verwendeten Windkessel und der Pumpe richtet sich natürlich ganz nach der Menge der Ausströmungskörper, ihrer Inanspruchnahme und der Zeit, während welcher gepumpt werden soll. Bei einer konstant fortarbeitenden Pumpe, wie solche namentlich in Amerika im Gebrauche sind, können die Vorratskessel sehr reduziert werden.

Die Berechnung der benötigten Luftmenge geschieht unter Zugrundelegung der Zeit, welche eine abgemessene Luftmenge unter einem eben hinreichenden Druck, um die höchste vorkommende Wassersäule zu bewältigen, braucht, um durch diese auszuperlen.

Für rasche Herstellung einer Durchlüftung in chemischen Laboratorien können endlich auch Bomben mit komprimiertem Sauerstoff dienen.

III. Das Insektarium.

Die im Handel käuflichen Insektarien sind Holzkäfige mit Drahtgeflechtwänden und einer seitlichen Tür (Fig. 23). Da sehr viele Insekten stets nach aufwärts zu streben, ist es praktisch, eine solche Anordnung zu treffen, daß Dach und Wände in einem abgehoben werden können. Ein einfaches Modell dieser Art (Fig. 24) besteht aus einem mit Müllergaze überzogenen prismatischen Drahtgestelle, dessen einer Kantenstab zu einer kreisförmigen Schlinge auf halber Höhe gewunden ist. In diese Schlinge paßt ein Kork- oder Kautschukstöpsel. Dieser Käfig kann in den Falz eines Holzbrettchens (*a*, *b* Querschnitt, *c* von oben) eingesenkt werden, das dann den Boden abgibt. Solche Insektarien sind leicht herzustellen, billig und bequem. Wird an Stelle von Müllergaze Organtin verwendet, so reduziert sich der Anschaffungspreis noch weiter, aber das Organtin hat die Nachteile geringerer Durchsichtigkeit und Haltbarkeit, namentlich wenn es naß wird. Eine gut erprobte Größe ist 50 *cm* Höhe bei 25 *cm* Breite und Länge. Auf das quadratische Brett kann ein Blumentopf mit der Futterpflanze oder zu sonstiger Bestimmung aufgestellt werden. Die Drahtschlinge dient nach Öffnen des Korkes zur Einbringung von Insekten, sei es, daß diese selbst das gewünschte Objekt sind oder als Futter dienen sollen. Auch eine Blumenspritze läßt sich leicht einführen, wenn die Nässung des Organtins von außen verhindert werden soll, und die Erde des Blumentopfes kann mittelst des Schnabels einer kleinen Gießkanne leicht begossen werden, alles, ohne daß der Käfig sonst geöffnet werden müßte.

Für Raupenzucht im großen sind die in den Seidenspinnerzüchtereien gebräuchlichen durchlochten Papierunterlagen, welche auf einen Holzrahmen aufgelegt werden, sehr praktisch (Fig. 25). Diese Papiere sind in verschiedenen Sorten erhältlich, welche sich durch die Größe der Löcher

unterscheiden. Die Löcher sollen die Exkremente, nicht aber die Raupen durchlassen und müssen daher, so lange die Räupchen klein sind, mit sehr geringem Durchmesser, später in immer größeren Dimensionen gewählt werden.

Raupenzuchten für unsere einheimischen Schmetterlinge lassen sich auch durch Umbinden von Zweigen der als Nahrung dienenden Pflanzen mit Organtinsäcken oder durch Überstülpen der krautartigen Futterpflanzen mit Drahtzylindern im Freien kultivieren. Die Gefahr dabei besteht in dem Eindringen kleinster Schlupfwespen oder Schlupffliegen, weshalb auf geringste Maschenweite zu sehen ist.

Insekten, welche entweder wie viele Käfer im Verborgenen leben oder sogar eigene Baue in oder an der Erde ausführen und dabei meist

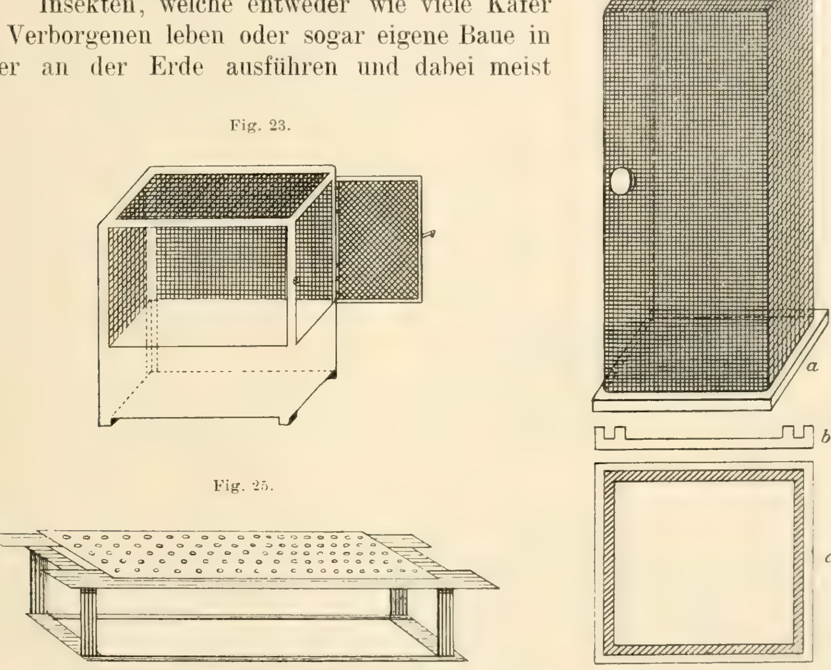


Fig. 23.

Fig. 24.

Fig. 25.

imstande sind, Holz anzugreifen und zu durchbohren (Ameisen, Termiten), müssen in innen mit Metall ausgeschlagenen Kisten gehalten werden, die natürlich auch nach Bedarf des Beobachters mit Glasscheiben ausgestattet sein können.

Für stechende Hymenopteren empfehlen sich die Einrichtungen der Bienenzüchter, welche mit sogenannten künstlichen Bienenstöcken arbeiten, in die durch ein Glasfenster jederzeit Einblick in das Treiben der Bienen gewonnen werden kann, wenn eine dasselbe in der Regel bedeckende Holzplatte entfernt wird.

Für Ventilation ist in allen Kisten durch Anbringung einer vergitterten Öffnung im Deckel zu sorgen.

b) Heizung und Beleuchtung.

Nicht alle Tiere können in unserem Klima ohne Heizung gehalten werden, wenn sie während der Wintermonate benötigt werden und nicht im Winterschlafe sich befinden sollen. Im allgemeinen sind die für den Gebrauch des Menschen geheizten Zimmer für alle Warmblüter, Reptilien, Insekten und viele andere Kaltblüter, die nicht an niedrigere Temperaturen angepaßt sind, gut verwendbar.

Amphibien, Fische des kühlen Wassers, Muscheln, Würmer und die aus den nördlichen Meeren stammenden Seetiere werden besser in den an geheizte Räume anschließenden Gängen oder Vorräumen untergebracht.

Nur für tropische Tiere sind eigene Heizungen notwendig. Solche können bei den „Kammerer"-Terrarien durch Einschieben einer Öl- oder Petroleumlampe unter den schiefen Boden angebracht werden (Fig. 26); heizbare Glasaquarien bestehen aus prismatischen Wannen, deren Boden eine muldenförmige, hohle Erhebung freiläßt, welche die Unterbringung der Heizquelle, als welche schon ein Nachtlicht genügen kann, gestattet (Fig. 27).

Fig. 26.

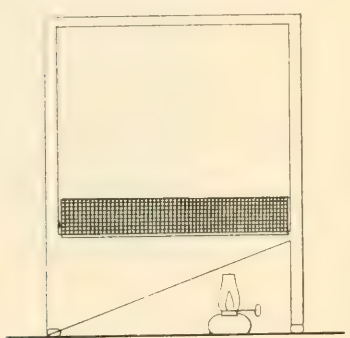
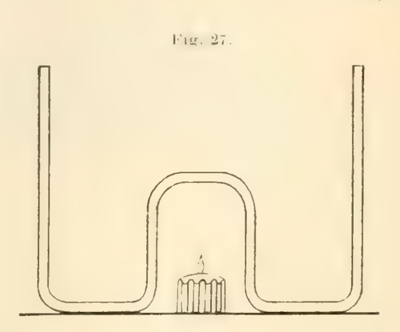


Fig. 27.



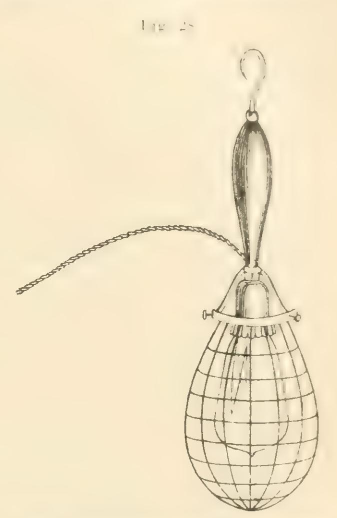
Zur Aufstellung von Aquarien und Terrarien mit tropischen Tieren sind die Warmhäuser der Gärtner geeignet; die Verwendung eigener Heizflammen läßt sich auch dann im Zimmer umgehen, wenn Zentralheizungsrohre oder Öfen eine Überdeckung mit einem Tische oder einer Stellage ohne Feuersgefahr zulassen.

Gasheizung ist wegen der Schädlichkeit der Verbrennungsprodukte und wegen der Austrocknung der Luft die ungünstigste Heizungsart, Niederdruckdampf- oder Warmwasserheizung die beste.

Temperaturschwankungen sind, soferne sie nicht die für die betreffende Tierart geltenden „Behaglichkeitsgrenzen" übersteigen, eher günstig als schädlich. Wie die Einhaltung bestimmter Temperaturen erfolgen kann, wird später im Abschnitte über die Haltung von Organismen unter konstanten Außenfaktoren ausführlich erörtert werden.

Es möge noch erwähnt werden, daß große Aquarien auch ohne sonstige Heizung des Raumes durch ein durchlaufendes verzinntes Rohr einer Zentralanlage beheizt werden können.

Mit Ausnahme der Höhlentiere und einiger grabender Tiere erfordern alle zu ihrem Wohlbefinden ein gewisses Maß von Licht. Terrarien und Aquarien werden daher am günstigsten in der Nähe von Fenstern aufgestellt: schon des besseren Gedeihens der grünen Pflanzen halber. Namentlich Reptilien und Insekten entbehren schwer die direkte Sonne. Hingegen muß man im Sommer für alle gegen Hitze empfindlichen Arten die direkte Sonne fürchten. Seewasseraquarien müssen gegen diese durch Zudecken mit Rohrmatten geschützt werden, weil sonst eine vollkommene Veralgung des Wassers eintritt, das ganz undurchsichtig wird.


Fig. 28.

Künstliche Beleuchtung ist nur insoferne in den zur Haltung der Tiere dienenden Räumen angenehm, als es eine Manipulation zu jeder Tages- oder Nachtzeit gestattet. Dabei ist es wieder gut, wenn der Beleuchtungskörper sich derart herumtragen läßt, daß er in alle Schlupfwinkel hineinzuleuchten imstande ist. Bei elektrischem Lichte wird dies durch eine an langem Seidenkabel hängende Suchlampe bewirkt. Ein Drahtkorb schützt die Glühlampe vor dem Zerschlagen (Fig. 28).

Schädlich ist übrigens weder natürliches noch künstliches Licht, auch nicht für Höhlen- oder Erdtiere, wenn nicht die Behälter durch die Strahlen zu stark erwärmt werden oder ultraviolette Strahlen vorherrschen.

c) Futter und Trank.

Wenn es sich darum handelt, Tiere einige Zeit am Leben zu erhalten, ohne daß ihre dauernde Aufzucht angestrebt wird, so ist die Tränkung weitaus wichtiger als die Fütterung.

Jedes Terrarium soll mit einem Trinknapf ausgestattet sein, der täglich gefüllt wird. Um diese tägliche Füllung zu ersparen, können namentlich bei den intelligenteren Wirbeltieren mit Wasser gefüllte Fläschchen dienen, die nach Art der bekannten Tintenfässer seitlich mit einem Schnabel versehen sind, der stets bloß einem Tropfen zu entnehmen erlaubt (Fig. 29), wenn die Flasche zuvor g a n z angefüllt worden war, so daß der äußere Luftdruck das Ausfließen des Wassers verhindert.

In Aquarien ist natürlich eine besondere Tränke unnötig, doch muß darauf geachtet werden, daß das Wasser nicht verdirbt. Wird es opaleszent, so ist Zeit, das Wasser zu wechseln. Beim Wasserwechsel ist eine Verschiedenheit an Temperatur oder Salzgehalt zu vermeiden. Es empfiehlt sich, in Zimmern mit Aquarien ohne Durchfluß stets Kannen stehen zu haben, welche tags zuvor mit dem Leitungswasser gefüllt worden sind, so daß

dieses über Nacht dieselbe Temperatur wie jenes im Aquarium angenommen hat.

Im Insektarium würden Trinknäpfe bloß zum Ertrinkungstode der Insassen führen. Die notwendige Feuchtigkeit wird hier durch Bespritzung der Pflanzen oder der Käfigwände mit einer Blumenspritze hergestellt. Bequem sind für diesen Zweck die „Zerstäuber“ (Fig. 30), welche nach Abschraubung der Pumpvorrichtung *(a)* mit Wasser gefüllt, wieder verschraubt und aufgepumpt werden, worauf die Bespritzung durch einen einfachen Druck auf einen Knopf *(b)* erfolgt.

Auf diese Art kann die Bespritzung mit einer Hand durchgeführt werden, und die zweite bleibt zur Verhinderung etwaiger Fluchtversuche frei.

Auch in jenen Terrarien, welche Trinknäpfe erhalten, ist das Spritzen für die Erhaltung einer der Vegetation und den Bewohnern günstigen Feuchtigkeit der Luft anzuraten. Die Stärke der Bespritzung hat sich ganz nach den Bedürfnissen der Pflanzen zu richten, welche im Freien die Umgebung der Tiere bilden.

Fig. 29.

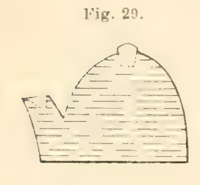
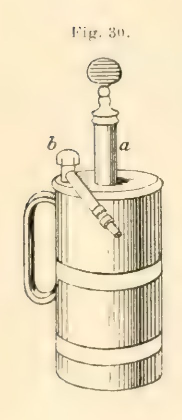


Fig. 30.



Als Tierfutter dienen entweder lebende Pflanzen und Tiere oder organische Abfälle, endlich agrarische und industrielle Produkte. Stets ist es günstig, mehrere Futtermittel abwechselnd zu reichen, wenn dieselben auch demselben Naturreiche entnommen werden; bloß die lebenden Pflanzen müssen gewöhnlich einem engumschriebenen Kreise zugehören, um den Geschmack der Pflanzenfresser, namentlich unter den Kaltblütern, zu entsprechen. Doch ist es meist möglich, ein leicht beschaffbares Surrogat zu verwenden, insbesondere Salat für Insekten, welche ein weiches, Himbeere, Brombeere oder Rose für Tiere, welche ein hartes Blatt vorziehen. Die Futterpflanze wird entweder eingetopft in den Käfig gestellt oder anderweitig angebaut und geschnitten verabreicht. Im letzteren Falle empfiehlt es sich, und zwar in warmen Räumen immer, die abgeschnittenen Zweige in enghalsige Fläschchen mit Wasser zu stecken, damit sie längere Zeit frisch bleiben. Manche Tiere vermögen schwer an der Glasflasche emporzukriechen, daher ist diese entweder in die Erde einzutiefen oder mit Moosstücken zu bekleiden.

Die notwendige Futterpflanze wird, falls das betreffende Tier auf ihr fressend aufgefunden wird, gleich mit eingesammelt; sonst ist dieselbe in den Schmetterlings- und Käferbüchern nachzuschlagen.

Als lebendes Futter hat sich eine sehr beschränkte Anzahl von Tieren eingebürgert, die verhältnismäßig leicht zu beschaffen, weiterzuziehen und zu verfüttern gehen.

Es sind dies: die Wasserflöhe (Daphniden) und die Bachröhrenwürmer (Tubifex) für Wassertiere, die Regenwürmer (Lumbriciden und Enchytraeiden).

die Mehlkäferlarven („Würmer" der Händler, Tenebrioniden), Küchenschaben (Periplanetiden) und Fliegen (Musciden) für Kaltblüter des Landes oder beider Elemente, Ameisenpuppen („Eier" der Händler, Formiciden) für Vögel und die ihnen nahestehenden Reptilien, endlich Mäuse für Schlangen und Säugetiere.

Um für eine längere Periode stets mit den Futterbedarf an lebenden Tieren bei der Hand zu sein, empfiehlt es sich, eigene „Futterzuchten" anzulegen (vgl. *Megušar* [1]).

Die genannten Futtertiere gehören sämtlich zur Kategorie jener Tiere, welche organische Abfälle und daher dann auch meist agrarische und industrielle Produkte verzehren. Die leichte Beschaffbarkeit des Futters für diese Tiere zu allen Jahreszeiten bildet eben einen der großen Vorteile ihrer Massenkultur.

Daphniden werden in Steintrögen oder Aquarien mit einer Bodenschichte von abgefallenem Laube und Lehmerde gehalten. Im warmen Zimmer geben sie bald die winterliche Ruheperiode auf und vermehren sich das ganze Jahr hindurch. Übrigens finden sie sich oft unter dem Eise noch im Januar und können durch ein eingehacktes Loch mit einem Glase oder Netze gefischt werden, da sie dem Lichte zustreben.

Fig. 31.

Tubifex ist nicht leicht aufzuziehen, doch halten sich gesammelte Kolonien bei Wasserdurchfluß in einem Bottich oder Troge lange Zeit, pflanzen sich auch fort, erfordern aber einen bestimmten, aus Pflanzendetritus bestehenden Schlamm, um reichlich auszuwachsen.

Lumbriciden kommen in jedem Komposthaufen und sonst in Gartenerde stets vor und pflanzen sich eventuell auch in Steintrögen, welche mit Humus gefüllt werden, in kühlen Gängen unserer Häuser fort.

Tenebrioniden werden im kleinen in Tonhäfen, im großen in Kisten (Fig. 31, Längsschnitt, *a* von oben) gehalten, deren Deckel mit einem

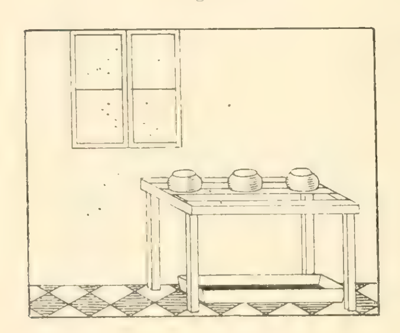
[1]) *Franz Megušar*, Über Beschaffung, Haltung und Züchtung jener Tiere und Pflanzen, welche bei Führung zoologischer Experimente, insbesondere mit wirbellosen und mit niederen Wirbeltieren des Binnenlandes und der Binnenwässer als Futtermittel am häufigsten benötigt werden. I. Mitt. Infusorien. Tenebrionidenlarven. Zeitschr. f. biol. Techn. u. Method. 1912.

Ventilationsgitterchen *(a)* versehen wird. Nach dem Vorgange *Megušars* füllt man zunächst bloß 1 *cm* hoch Kleie ein, welche Schicht allmählich durch das Nachfüllen des Futters ansteigt.

Auf die Futterschichte kommen zwei durch Holzklötzchen auseinandergehaltene Brettchen (I, II) zu liegen.

Diese Anordnung bietet den Vorteil, daß bei Aufstreuung des frischen Futters, bestehend aus einem Gemisch von Kleie, zerriebener Möhre oder Zuckerrübe oder verdorbenem Obst, die Larven und Käfer sich zwischen den Brettern ansammeln und jederzeit ohne Suchen in größerer Menge herausgeschöpft werden können. Geht dabei Kleie mit, so kann durch Schütteln über einem engmaschigen Siebe das lebende Futter abgesondert werden. Die Mehlwurmkisten sind nicht stark feucht zu halten und womöglich bei verschiedenen Temperaturen aufzustellen, damit die Käfer nicht überall gleichzeitig erscheinen. Diese sind nämlich wegen ihrer Härte zu Futterzwecken meist unverwendbar. Andrerseits ist solchen Kisten eine Schonzeit einzuräumen, damit die Brut zur Entwicklung kommen kann.

Fig. 32.



Als kleinere Futtertiere ist es aus dem gleichen Grunde besser, nicht junge Mehlkäferlarven, sondern die Larven kleinerer Arten zu verwenden. Als solche kleine Art eignet sich Gnathocerus cornutus, welcher mit Mehl nach Europa eingeschleppt worden ist.

Für Periplanetiden gilt ganz dasselbe wie für die Tenebrioniden, nur daß man sich noch sorgfältiger von dem guten Verschlusse der Kisten zu überzeugen hat, um die Schaben nicht als ungebetene Gäste in die menschliche Wohnung zu bekommen.

Die Musciden können je nach ihrer Größe am besten in zugebundenen Einsiedegläsern mit eingesetzten Bananen und sonstigen Obstüberresten (Drosophila) oder in Kammern (Fig. 32) gezüchtet werden, die mit Stellagen ausgestattet werden, durch deren Gitterstäbe die in oben aufgestellten Gefäßen mit Aas (Calliphora) oder verschiedenen Abfällen (Musca) sich entwickelnden Maden bei ihrer Auswanderung vor der Verpuppung hinabfallen und von den unten aufgestellten Tassen aufgefangen werden (*Megušar* a. a. O.). Die erste Beschaffung des Fliegenmateriales geschieht im Sommer leicht im Freien durch beschickte Einsiedegläser, während im Winter Ställe die beste Quelle abgeben.

Die in den Zuchtkammern frei fliegenden Zweiflügler können unschwer gesammelt werden, da sie stets den Fensterscheiben zustreben und von dort in Gläser abgeklopft werden, welche man rasch mit einer Glasscheibe überdeckt. Die Fliegen benötigen Wärme zum Züchten, daher sind sie im Winter am besten in der Nähe einer Heizung zu etablieren.

Zum Verfüttern bereitgestellte Fliegen dürfen nicht in den Gläsern einer höheren Temperatur ausgesetzt werden, da sie sonst leicht noch vor ihrer Verwendung eingehen und tote Tiere von den meisten Räubern verschmäht werden.

Formiciden in geringem Umfange ihrer Puppen halber zu züchten, dürfte kaum der Mühe lohnen, welche die Vorsichtsmaßregeln gegen ihr Entkommen erfordern.

Im Freien können jedoch Ameisenkulturen sehr gut durch Wassergräben isoliert und mit allerhand Abfällen ernährt werden.

Die zur Mäusezucht dienenden Käfige sind bereits geschildert worden; die Nahrung kann aus Milch, Brot, Getreide (Wicken, Mutterkorn, Buchweizen, Mais und Reis sind zu vermeiden), Hühnerklein und anderen Küchenabfällen bestehen, und wie gesagt, ist es am besten, gemischt zu füttern.

Das zu den geschilderten Futterzuchten kaltblütiger Tiere benötigte Futtermaterial kann ohne Wechsel längere Zeit belassen werden. Hingegen sind Warmblüter womöglich täglich, mindestens aber jeden zweiten Tag mit einer für sie ausreichenden Futtermenge zu versehen. Bei Kaltblütern genügt eine weniger regelmäßige Fütterung, doch ist die Anfüllung der Futternäpfe jeden zweiten Tag günstig.

Fig. 33.

Reptilien, welche wie die Schlangen, mit lebendem Futter versorgt werden, halten zwar eine lange Fastenzeit aus, aber damit soll nicht gesagt sein, daß ein wochenlanger Hunger sie günstig beeinflußt.

Für Wassertiere ist es immer gut, bloß jeden zweiten Tag zu füttern, damit etwaige Nahrungsreste, welche das Wasser verderben würden, sicher von den Tieren aufgezehrt, eventuell die beginnende Verderbnis des Wassers durch die fortschreitende Sauerstoffversorgung wieder aufgehoben wird, ehe neue Fäulniserreger mit dem neuen Futter eintreffen.

Um Fische mit dem käuflichen Fischfutter zu füttern, ist es erforderlich, Glasrähmchen (Fig. 33) auf dem Wasser schwimmen zu lassen, welche das eingestreute Futtermehl beisammenhalten und vor der Vertragung im ganzen Becken schützen.

Aas, welches für viele Krustentiere des Meeres die einzige Nahrung bildet, ist nie in großen Stücken zu reichen. Vielmehr wird ein Fisch oder ein Stück rohes Fleisch (Pferdefleisch wird in der Regel nicht gerne genommen) in kleine Stückchen geschnitten und jedes Stückchen an einem Faden angebunden, der lang genug ist, um über den Rand des Aquariums hinabzuhängen, wenn das Fleischstück in das Aquarium selbst bis zu jener Niveauhöhe, auf der sich die Insassen bewegen können, eingetaucht worden ist.

Diese Anordnung bietet den großen Vorteil, daß unverzehrte Aasstücke wieder am nächsten Morgen mittelst des Fadens herausgezogen werden können.

Viele Fleischfresser, welche kein totes Futter annehmen wollen, können hierzu durch Bewegen der Fleischstückchen gebracht werden. Man bediene sich hierzu vernickelter Pinzetten (Fig. 34 *a*), im Seewasser noch besser Ebonit- oder Holzpinzetten (*b*).

Die Pinzetten sollen nicht zu kurz und an den Greifspitzen mit Riefen versehen sein; die Spitzen sollen gut aufeinander passen und die Federung leicht spielen.

d) Reinigung und Körperpflege.

Nahrungsüberreste sind stets, sobald sie ihre Frische eingebüßt haben, aus den Käfigen oder Aquarien zu entfernen. Nicht bloß Wasserverderbnis, sondern auch das Auftreten von tierschädlichen Pilzkrankheiten auf den Überresten können bloß auf diese Art vermieden werden.

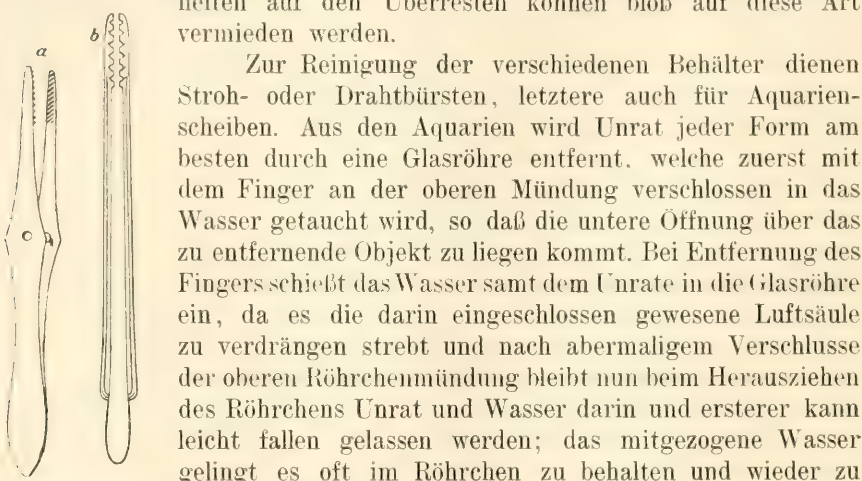


Fig. 34.

Zur Reinigung der verschiedenen Behälter dienen Stroh- oder Drahtbürsten, letztere auch für Aquarienscheiben. Aus den Aquarien wird Unrat jeder Form am besten durch eine Glasröhre entfernt, welche zuerst mit dem Finger an der oberen Mündung verschlossen in das Wasser getaucht wird, so daß die untere Öffnung über das zu entfernende Objekt zu liegen kommt. Bei Entfernung des Fingers schießt das Wasser samt dem Unrate in die Glasröhre ein, da es die darin eingeschlossen gewesene Luftsäule zu verdrängen strebt und nach abermaligem Verschlusse der oberen Röhrchenmündung bleibt nun beim Herausziehen des Röhrchens Unrat und Wasser darin und ersterer kann leicht fallen gelassen werden; das mitgezogene Wasser gelingt es oft im Röhrchen zu behalten und wieder zu verwenden, was bei Salzwasser bestimmter Konzentration von Nutzen sein kann.

Trockenen Kot braucht man nicht täglich zu entfernen, hingegen ist es notwendig, Mittel gegen die flüssigen Absonderungen der Warmblüter anzuwenden. Am geeignetesten ist die Bestreuung des Käfigbodens mit Torfmull, der zugleich Ungeziefer zurückhält und bei der Reinigung ganz ausgekehrt werden kann.

Zur Vertreibung von Ungeziefer ist die Behandlung des ganzen entleerten Käfigs mit heißem Wasser oder Dampf, die Auswaschung mit Lysoform oder einem anderen Desinfiziens zu empfehlen. Glasscheiben können mit schwacher Salzsäure gereinigt werden. Ohne die legitimen Einwohner aus dem Käfig zu entfernen, ist es hingegen schwer, des Ungeziefers los zu werden. Von Läusen befallene Säugetiere können durch Waschung mit Methylalkohol von den Parasiten befreit werden.

Zum Schutze gegen ansteckende Krankheiten und zur Beseitigung bereits ausgebrochener Seuchen dienen ebenfalls die angegebenen Desinfektionsmittel; für große Räume auch Formoldämpfe.

Amphibien und Fische werden öfters von Geschwüren und Schimmelpilzen heimgesucht; durch Abpinselung der affizierten Stellen mit Hypermangan- oder Lysollösung gelingt es manchmal der Krankheit Herr zu werden. Selbstverständlich ist die Isolation der erkrankten Tiere zur Verhinderung weiteren Umsichgreifens der Infektionen geboten. Der verschuldende Faktor für das Gedeihen der Spalt- und Schimmelpilze liegt meist in ungenügender Durchlüftung. Namentlich Fischeier, welche bei sehr niedriger Temperatur sich zu entwickeln gewohnt sind, z. B. jene der Bachforelle, erfordern fortwährenden Wasserwechsel und Entfernung von Schimmel befallener Stücke. Auch eben zur Verwandlung sich anschickende Amphibien scheinen beim Übergange zum Landleben leicht Infektionen zu unterliegen.

Dehnt sich ein Belag von Saprolegniapilzen als weißer Rasen über einen großen Teil des befallenen Tierkörpers aus, so können die Wassertiere auch ganz in schwache Hypermanganlösungen eingebracht werden, sind aber nicht zu lange darin zu belassen.

Geschwürige Extremitäten von Schwanzlurchen entfernt man im ganzen mittelst einer durch die Flamme sterilisierten Schere, wodurch dem Tiere weniger Schaden zugefügt wird, als es das Fortschreiten der Krankheit bedingen würde. Zudem wachsen die verlorenen Gliedmaßen bei dieser Tierordnung wieder nach. Bei allen Wirbeltieren können brandig gewordene Beine nach vorheriger Abbindung oberhalb der Erkrankungsstelle mit Seidenfaden oder Darmsaite operativ unter Einhaltung aseptischer Grundsätze entfernt werden. Bei Warmblütern unterlasse man nicht zu narkotisieren! Schwefeläther ist dem Chloroform weitaus vorzuziehen, da letzteres bei kleineren Tieren leicht zum Tode führt. Zum Ätherisieren dienen Glasdosen mit eingeriebenen Glasdeckeln.

Der Äther wird auf ein Stückchen Watta gegossen und diese samt dem Tiere in die Glasdose eingebracht.

Sobald alle Bewegungen des Tieres, mit Ausnahme der Atmung, sistiert haben, ist die Operation mit möglichster Geschwindigkeit vorzunehmen. Üble Nachwirkungen der Narkose habe ich bei Ratten nie gesehen; die Vorteile bestehen in der Schmerzlosigkeit des Eingriffes, dem geringen Blutzufluß und der Ruhe des Objektes, welches der Operateur zu behandeln hat.

Bei niederen Tieren ist die Narkose häufiger von Üblichkeiten beim Erwachen und auch von sonstigen Gefahren begleitet. Für Wassertiere wird an Stelle von Schwefeläther Chloralhydrat empfohlen, das direkt ins Wasser gegossen werden kann.

Gesunde, kleinere Tiere brauchen in der Regel keine besondere Körperpflege seitens des Menschen, da sie sich selbst reinigen. Bäder sind günstig, falls die notwendige Vorsicht gegen das Ertrinken angewendet wird. Namentlich bei großer Hitze gehen fast alle Wirbeltiere gerne ins Wasser.

Man vermeide es, Tiere unnötig, namentlich im Beginne ihrer Gefangenschaft, oft in die Hand zu nehmen, aus ihren Verstecken hervor-

zujagen oder sonst zu beunruhigen, da sie sonst in Gefahr geraten, ihre Erhaltungsinstinkte zu verlieren.

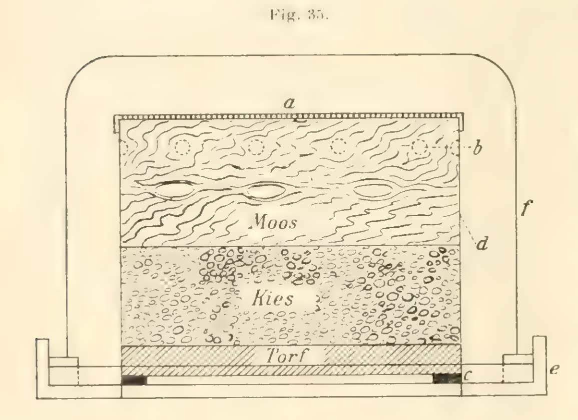
Dafür gewöhnen sich fast alle nicht ganz unintelligenten Tiere bald an die zur Fütterung, Bespritzung und Reinigung notwendigen Manipulationen der Wärter und benehmen sich später auch in Gegenwart des Menschen ebenso wie unbeobachtet.

2. Weiterzucht unter günstigen Bedingungen.

In erhöhtem Maße gilt es, günstige Bedingungen zu schaffen und die Tiere nicht unnötigerweise zu beunruhigen, wenn eine Nachzucht beabsichtigt ist.

Viele Tiere schreiten bloß dann zur Fortpflanzung, wenn ihnen Verhältnisse geboten werden, die ein Aufziehen der Jungen ermöglichen. Säugetieren (und Vögeln) ist eine entsprechende Lagerstätte, die später auch als Nest für die Jungen dient, zu bereiten. Ratten und Mäuse nehmen mit Holzwolle oder Watte vorlieb, die entweder in einer Käfigecke aufgestapelt oder in einem Holzkistchen verwahrt wird. Hohle Baumstrünke sind für die baumbewohnenden Nager, Hörnchen, Bilche und auch die Hausratte, Mus rattus, gut zu verwenden.

Fig. 35.



Reptilien legen ihre Eier gerne in Sand, der etwas feucht gehalten ist. Man findet die Eier daher häufig unter oder neben dem Wassernapfe, aus dem stets durch das Umherplätschern der Tiere etwas Feuchtigkeit vergossen wird.

Da die Reptilien zur Embryonalentwicklung höhere Temperatur bedürfen als die übrigen einheimischen Kaltblüter, so wurden eigene Brutapparate konstruiert.

So besteht jener des Oberleutnant *Max Wiedemann*[1]) (Wien) (Fig. 35) aus einem mit Drahtdeckel *(a)*, Lüftungslöcher *(b)* und kleinen Füßchen *(c)* ausgestatteten Tongefäß *(d)*, das auf einen glasierten mit Wasser gefüllten (Niveau *g*) Tonuntersatz *(e)* gestellt und von einem Glassturze *(f)* überdeckt wird. Das Tongefäß enthält von unten nach oben eine Torf-, Kies- und Moosschichte, in welch letzterer auf mittlerer Höhe die Eier eingebettet wer-

[1]) Zitiert nach *Kammerer*, Das Terrarium, l. c.

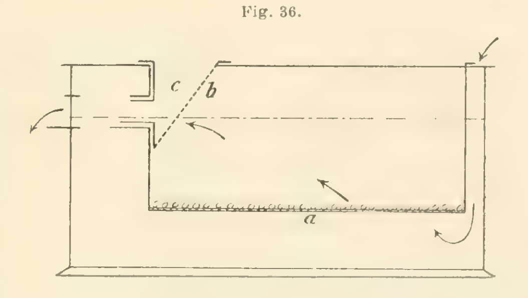
den, während der Tonuntersatz mit Wasser bis zur Hälfte der Torfschicht angefüllt wird.

Bekanntlich werden die Eier von Hühnern und anderen Vögeln, wie Truthühnern, Straußen usf., jetzt häufig ebenfalls in Brutapparaten erbrütet, welche den Eiern die Temperatur des Brutvogels zu ersetzen imstande sind. Gewöhnlich erfolgt die Beheizung durch eine Petroleumlampe, welche automatisch niedriger oder höher gestellt wird. Im übrigen gibt es sehr viele verschiedene Systeme, von denen die amerikanischen Fabrikate sich des besten Rufes erfreuen. Ähnliche Apparate kommen als Couveusen für vorzeitig geborene Säugetiere in Betracht. Auch normal geborene, kleine Säuger scheinen unter 10° C nicht zu gedeihen.

In Terrarien, Aquarien und Insektarien bietet die Bepflanzung und Bodenbeschickung jene Schlupfwinkel und Materialien, welche zum Nestbau oder zur einfachen Eiablage einladen.

Die meisten Amphibien gehen zur Laichzeit ins Wasser und sind daher mit einem geräumigen Wasserbade zu versehen. Der Sonnenschein begünstigt vielfach das Auftreten der Brunft. Tagschmetterlinge benötigen Flugräume zur Begattung.

Fig. 36.



Eine besondere Schwierigkeit bieten für die Weiterzucht jene Tiere, deren Weibchen die Eigentümlichkeit haben, das Männchen gerne zu verzehren.

Ich habe bei den Gottesanbeterinnen (Mantiden) dies durch Fesselung der weiblichen Exemplare vermieden.[1]) Als Fessel dient ein um die Vorderbeine des Weibchens geschlungenes und auf besondere Art geknüpftes Bändchen aus Leinen oder Baumwolle. Ein zu festes Anziehen darf nicht geschehen, da sonst leicht die Vorderbeine verletzt und dann vom eigenen Träger abgefressen werden, was wieder das Tier hindert, später die Nahrungsfliegen zu erhaschen.

Für die nur im fließenden Wasser gedeihenden Forelleneier und anderer Fischeier dienen Fischbrutttröge, die treppenförmig übereinander aufgestellt, einen einzigen Zuflußstrahl auszunützen erlauben. Jeder Trog (Fig. 36, Längsschnitt) ist mit einem Glas- oder verzinnten Drahtrost *(a)* für die Ausbreitung der Eier und mit einer durch Drahtgitter *(b)* abgeteilten Kammer *(c)* versehen, welche das Wegschwemmen der Eier verhindert.

Das Einströmen des Wassers geschieht am besten von unten, so daß es den Draht- oder Glasrost aufwärts passiert und oben durch das [illegible]

---

[1]) *Hans Przibram,* Aufzucht, Farbwechsel und Regeneration der Gottesanbeterinnen. III. Arch. f. Entwickl.-Mech. XXVIII. S. 566. 1909.

nende Gitter *(b)* wieder den Trog verläßt. (In der Figur durch Pfeile angedeutet.)

Fischeier lassen sich mit Vorteil künstlich besamen, indem zuerst die Eier aus dem Weibchen abgestrichen, dann der Samen des Männchens ebenfalls durch Bauchmassage (leichter Druck von vorne nach rückwärts) darüber gespritzt wird.

Hingegen ist die jetzt vielfach mit Erfolg angewandte künstliche Befruchtung ohne Samen durch Anwendung chemischer oder sonstiger anorganischer Mittel für die Weiterzucht bisher nicht empfehlenswert, da die Produkte meist viel hinfälliger sind als die durch Besamung gewonnenen, auch die bis jetzt verwendbaren Arten sich z. B. schlecht fortzüchten lassen (Echinodermen, Mollusken).

Viele Säugetiere haben die üble Gewohnheit, ihre Jungen, vor allem den ersten Wurf, wenigstens in der Gefangenschaft aufzufressen. Nach meinen Erfahrungen läßt sich dieser Unart für die weiteren Würfe durch Reichung von genügender Fleischkost vorbeugen.

Die oft gehörte gegenteilige Ansicht von Züchtern ist jedenfalls für die Nagetiere unrichtig.

IV. Haltung unter willkürlichen Versuchsbedingungen.

Unsere bisherige Anleitung zum Halten der Tiere ging ausschließlich von der Voraussetzung aus, daß es sich um die möglichst günstigen Existenzbedingungen für die gefangenen Tiere und ihre Nachkommenschaft handle. Diese Forderung deckt sich mit jener der Tierliebhaber; aber schon der auf Gewinn ausgehende Tierzüchter wird damit nicht zufrieden sein, sondern trachten, die Existenzbedingungen so abzuändern, daß gerade jene Eigenschaften, deren starke Entfaltung er an seinen Produkten wünscht, gegenüber solchen, die ihm gleichgültig oder sogar unerwünscht sind, gefördert werden. So wird der Milchwirt, wenn es ihm auf die Erzielung gut verwertbarer Kindermilch ankommt, die Kühe der ganz unnatürlichen Trockenfütterung im Stalle, der Mäster seine kastrierten Rinder ebenfalls ganz unnatürlichen, aber dem Fleischansatz günstigen Bedingungen unterziehen.

Noch viel weniger kann sich der Biologe damit begnügen, der Natur abgelauschte, aber nicht näher analysierte, noch kontrollierte Außenbedingungen wirken zu lassen, sodald es ihm darauf ankommt, den Zusammenhang zwischen der Veränderlichkeit der äußeren Umgebung und der Veränderlichkeit des Tierkörpers in bezug auf die Rassen- und Artmerkmale zu studieren. Niemand zweifelt heute mehr daran, daß die Unterschiede der Rassen- und Artmerkmale zumindest mit chemischen Prozessen einherschreiten, wenn nicht ausschließlich auf solchen basieren. Es wird daher voraussichtlich immer mehr ein Konnex zwischen Biochemie und experimenteller Morphologie zustande kommen, was es genügend rechtfertigt, auch an dieser Stelle eine Darstellung der von uns willkürlich herstellbaren Versuchsbedingungen zu geben.

Für die Einwirkung äußerer Faktoren kommen im allgemeinen in Betracht: die Kraftquelle (inklusive chemischer Affinität), das Verteilungssystem, die automatische Regulierung des Zuflusses und die Kontrolle der Einhaltung der Versuchsbedingungen, entweder durch Stichproben mit gewöhnlichen Meßinstrumenten oder durch fortlaufende Registrierung mit eigens konstruierten Schreibeapparaten.

Wir wollen die äußeren Faktoren nach dem Vorgange *C. B. Davenports* in acht Gruppen einteilen und jede derselben getrennt in bezug auf die Mittel zur Erzielung willkürlicher Grade behandeln.

Die Gruppen sind:

1. Chemische Agenzien.
2. Feuchtigkeit.
3. Dichte des Mediums,
4. Mechanische oder molare Agenzien (Druck, Zug, Stoß etc.).
5. Schwerkraft.
6. Elektrizität (und Magnetismus).
7. Licht (und andere strahlende Energien).
8. Wärme.

1. Chemische Agenzien.

Die Abänderung der chemischen Umgebung kann entweder die Atmosphäre, das Wasser als Bad oder ständiger Aufenthaltsort, die einzunehmende Nahrung flüssiger und fester Natur oder die Einverleibung von Stoffen durch Injektion betreffen.

Die Veränderung der Atmosphäre geschieht gegenwärtig am bequemsten durch den Ersatz eines Teiles der Atemluft durch eine mittelst Reduzierventil aus einer mit komprimiertem Gase der gewünschten Art gefüllte Stahlflasche, sogenannte „Bombe". Sauerstoff und Kohlensäure werden mit Rechtsgewinden, Wasserstoff mit Linksgewinde in den Handel gebracht, um gleichzeitige Einfüllung von Wasser- und Sauerstoff ihrer Explosionsgefahr halber zu vermeiden. Die Bomben mit komprimierten Gasen sind nicht der Hitze auszusetzen und nicht stark zu erschüttern oder tief fallen zu lassen! Ist das gewünschte Gas nicht auf Flaschen abgezogen zu erhalten, so müssen die dem Chemiker geläufigen, gläsernen Gaserzeugungsapparate (*Kipp*scher Apparat etc.) verwendet werden, wobei das Aufstapeln des Gases meist durch Aufsteigen in einer zunächst mit Wasser gefüllten Gasometerglocke erfolgt. Flüchtige Stoffe werden aus einem offenen Schälchen zur Verdunstung gebracht.

Handelt es sich um fortdauernde Beeinflussung, so müssen die Tiere in abschließbaren Rezipienten gehalten werden. Um für die notwendige Atemluft zu sorgen, muß entweder die Manipulation täglich wiederholt oder für Zu- und Abströmung von Luft gesorgt werden. Der letztere Vorgang erfordert dann stetigen Zufluß des noch gewünschten Gases. Wie sich automatisch Zu- und Abfluß in einem Rezipienten regeln läßt, wird bei der Besprechung des Luftdruckes (vgl. 3. Dichte) geschildert werden.

Flüssige Stoffe können als Zusatz zum Badewasser oder als Trank und als Zusatz zur Speise eingegeben werden. Die erstere Methode ist für eine größere Anzahl von Wassertieren weit einfacher durchzuführen, die letztere erfordert hingegen geringere Mengen des Chemikaliums.

Bezüglich der von einer Tierart vertragbaren Menge einer bestimmten Substanz überzeuge man sich, falls in der Literatur (Toxikologien, toxikologische Wörterbücher) keine Angaben auffindbar, zuerst durch Serienversuche mit abgemessenen steigenden Zusatzmengen von der Möglichkeit des Einwirkungsgrades.

Bei Flüssigkeiten ist ein solcher Versuch am raschesten so anzustellen, daß kleine Gefäße mit einer gleichen Wassermenge nebeneinander aufgestellt werden und in das erste Schälchen gar kein Chemikalium, in das zweite eine sehr kleine, abgewogene Menge der zu prüfenden Substanz, in die dritte die doppelte Menge, in die vierte die vierfache Menge usf. zur Auflösung gebracht wird. In jedes Schälchen kommt die gleiche Anzahl der zu untersuchenden Tiere und nach einiger Zeit zeigt es sich, welche Menge des Chemikaliums noch den Tieren ebenso unschädlich ist wie das Wasser allein. Bei starken Giften ist natürlich besondere Vorsicht geboten (in vielen Staaten werden Gifte bloß gegen einen behördlichen Schein, „Giftlizenz", ausgefolgt). Unetikettierte Flaschen, Eprouvetten und Behälter sind strenge zu vermeiden, übrigens nicht nur aus Sicherheitsgründen, sondern ganz allgemein, da die Exaktheit des Versuches wesentlich verliert, sobald man nicht alles schriftlich fixiert und sich auf das Gedächtnis verlassen zu können glaubt!

Die Veränderung der festen Nahrung kann in der Ersetzung eines Teiles der natürlichen Nahrung durch andere Stoffe oder ebenfalls in der Beimischung starker Arzneistoffe bestehen.

Die Ersetzung der natürlichen Nahrung kann den Zweck haben, bestimmte Gruppen chemischer Natur von der Einfuhr auszuschließen (eiweiß- oder fettfreie Kost etc.) oder den Einfluß bestimmter Stoffe zu studieren. Manches Mal handelt es sich beim Ausschlusse einer bestimmten Nahrung darum, zu sehen, ob das Tier zur Entwicklung eines bestimmten Merkmales oder Erreichung eines bestimmten Stadiums ein bestimmtes in der Nahrung vorhandenes Chemikalium benötigt. In solchen Fällen ist es oft nicht notwendig, eine für das fortdauernde Gedeihen der Tiere ausreichende Kost zu geben, sondern bloß eine solche, die einige Zeit das Leben zu erhalten imstande ist.

Handelt es sich zum Beispiel darum, nachzuweisen, ob die grüne Färbung mancher Insekten erst durch die chlorophyllhaltige Nahrung hervorgerufen wird oder auch ohne diese Aufnahme sich nach dem Ausschlüpfen allmählich herstellt, so kann eine Zuckerlösung dazu dienen, die Larven lange genug am Leben zu erhalten, obzwar sie nicht ausreicht, um dieselben die ganze Verwandlung durchmachen zu lassen.

Wollen die Tiere die veränderte Nahrung nicht freiwillig annehmen, so kann bei größeren Tieren durch „Stopfen", wobei aber eine gewisse

Geschicklichkeit, festes, aber nicht derbes Anpacken, notwendig erscheint, nachgeholfen werden. Bei kleineren Tieren muß die Mundpartie in die betreffende Nahrung hineingehalten werden, um ein Zubeißen und nachheriges Ablecken bei dem Reinigen der Mundwerkzeuge zu provozieren.

Die Injektion von Salzlösungen oder Giften erfolgt mittelst *Pravaz*scher Spritzen (in allen medizinischen Apparatenhandlungen erhältlich). Bei Giften besondere Vorsicht wegen der Gefahr der Blutvergiftung bei Stichverletzung!

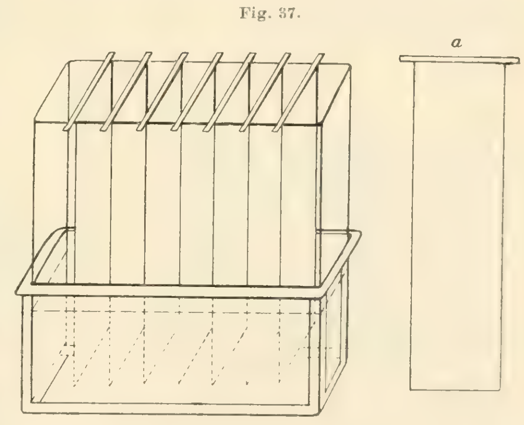
Da alle Veränderungen der chemischen Faktoren mittelst abgewogener oder volumetrisch abgemessener Mengen erfolgt, so ist eine Kontrolle und Registrierung nur bei den flüchtigen Substanzen notwendig. Hierher gehören z. B. die Prüfungsmethoden der Luft auf Kohlensäuregehalt.

Daß Quantitäten von Chemikalien genauer mit der Wage als mit Volummaßen gemessen werden, braucht dem Chemiker nicht gesagt zu werden.

2. Feuchtigkeit.

Um in einem Raume einen bestimmten Feuchtigkeitsgrad einzuhalten, muß dafür gesorgt werden, daß derselbe möglichst dicht abschließt und nicht zu klein sei. Erhöhung der Feuchtigkeit geschieht durch Aufstellung von Wasserbecken. Bei höherer Temperatur oder hohen Feuchtigkeitsgraden genügt das Aufstellen von Becken allein nicht, es muß für eine möglichst große Verteilungsfläche der Wasserverdunstung gesorgt werden. Dies geschieht am besten durch nebeneinander in das Wasser eingetauchte Asbeststreifen. Da die für den Zimmergebrauch im Handel erhältlichen Apparate („Gloria", zu haben in den Handlungen für sanitäre Einrichtungen) nur in verhältnismäßig kleiner Größe und infolge der schönen Ausstattung mit beträchtlichen Kosten erhältlich sind, so empfiehlt es sich, in viel einfacherer Weise die Asbestplatten auf Gestellen einzuhängen, die aus Blechstreifen oder starkem Draht gefertigt werden und Tonbecken als Wasserreservoir zu verwenden (Fig. 37; *a* einzelne Asbestplatte von der Fläche). Je höher die Temperatur, um so mehr solcher Becken werden benötigt; für die Verdunstung selbst wäre es gleichgültig, ob mehrere kleine oder ob ein großes Becken aufgestellt wird, aber im Interesse leichterer Hantierung und Reinigung empfiehlt sich die größere Anzahl.

Fig. 37.

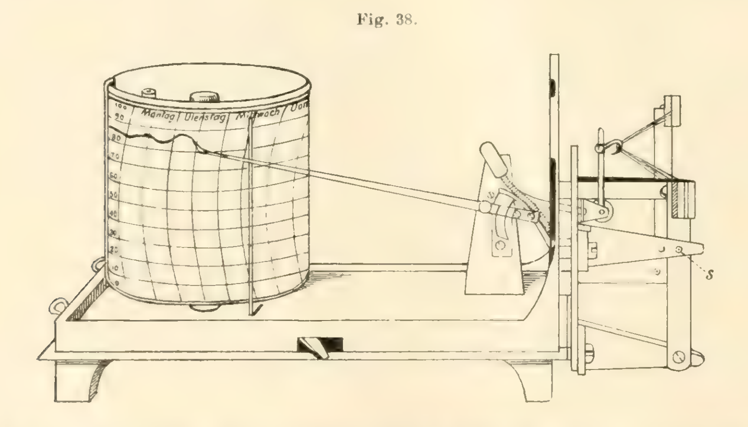


Für die biologischen Versuche kommt es nicht auf die absolute Feuchtigkeit (die in der Raumeinheit enthaltene Gewichtsmenge Wassers), sondern auf die relative Feuchtigkeit an. Bei jeder Temperatur ist die Luft nur imstande, ein gewisses Wasserquantum in Dampfform zu erhalten, der Rest kondensiert stets wieder an den Wänden (und zwar zunächst an jenen Stellen, welche die besten Wärmeleiter sind). Die relative Luftfeuchtigkeit wird nun durch jenen Prozentgehalt an Wasser gemessen, der auf die Menge Wasser als 100 bezogen wird, welche bei der gegebenen Temperatur in der Raumeinheit bei erreichter Dunstsättigung des Raumes vorhanden wäre.

Zur Messung der (relativen) Feuchtigkeit dienen Psychrometer, welche entweder (nach *August*) auf dem Prinzipe der Temperaturdifferenz auf zwei miteinander verbundenen Thermometern beruhen, deren eines in einen mit Wasserdunst gesättigten Raum taucht, während die andere nur von der Feuchtigkeit des abzumessenden Raumes umgeben ist. Zur Ausrechnung der relativen (und absoluten) Luftfeuchtigkeit dienen entweder die bereits am Psychrometer (System „Draca") angebrachten oder die im Buchhandel erhältlichen Tabellen zur Psychrometerablesung von *Jellinek*.

Zur raschen Ablesung von Feuchtigkeitsgraden in Prozenten kann man sich der allbekannten Haarhygrometer bedienen. Allein eine besondere Genauigkeit pflegen dieselben nicht zu beanspruchen und erfordern wieder-

Fig. 38.



holte Korrektur ihres Ganges, der durch Anziehen oder Lockerlassen eines kleinen, das Haar spannenden Schräubchens erfolgt.

Besser zu empfehlen sind die Registrierapparate, welche als „Hygrographen" (Fig. 38) in den Handel kommen, namentlich jene der Firma *Richard* in Paris (ein Apparat kommt samt den Registrierpapierstreifen für 1 Jahr auf etwa 150 Frcs.). Die Apparate werden bereits kontrolliert abgeliefert, ihre Nachprüfung geschieht durch Einbringung in einen Kasten, der ganz hermetisch als dunstgesättigter Raum hergestellt ist und eine Glastafel besitzt.

Bei richtigem Gange des Hygrographen muß der Schreibehebel im dunstgesättigten Raume die Federspitze auf die 100° $_0$ markierende Linie des aufgespannten Registrierpapierstreifens sich einstellen. Etwaige Abweichungen lassen sich durch Einstellen einer Schraube (*s*) mittelst des beigegebenen Schlüssels beseitigen. Die Apparate werden gewöhnlich mit 7tägiger Laufzeit der Trommel geliefert, so daß jede Woche zu gleicher Zeit ein neuer Streifen einzulegen und das Uhrwerk von neuem aufzuziehen ist.

Automaten für die Konstanthaltung eines bestimmten Feuchtigkeitsgrades sind mir nicht bekannt, könnten aber wohl unter Benutzung von hygroskopischen Seilen, die Wasserbespritzung betätigen könnten, hergestellt werden.

Um Trockenheit zu erzeugen, genügen in kleinen Behältern Täßchen mit einer wassersaugenden Substanz, Chlorkalzium, eventuell auch Chlornatrium.

Befindet sich das Täßchen in derselben Raumabteilung wie die Tiere, so ist es durch ein Drahtgitter gegen den direkten Kontakt mit diesen zu schützen.

Größere Räume können bloß durch einen Luftstrom trocken gehalten werden.

Hierzu sind eigene, in Verbindung mit Trockenböden und Kühllagern bereits in der Praxis erprobte Anlagen erforderlich.

3. Dichte des Mediums.

Die Veränderung der Dichte eines flüssigen Mediums erfordert gegenüber der Bereitung chemischer Abänderungen keine wesentlich anderen Vorrichtungen. Als Meßinstrument dienen die bereits erwähnten Aräometer, welche ebenso wie die Einhaltung einer bestimmten Dichte gelegentlich der Einrichtung des Seewasseraquariums bereits besprochen wurden.

Die Veränderung der Dichte eines gasförmigen Mediums, vor allem der Luft, erfolgt durch eine Verdünnungs- respektive Verdichtungsluftpumpe.

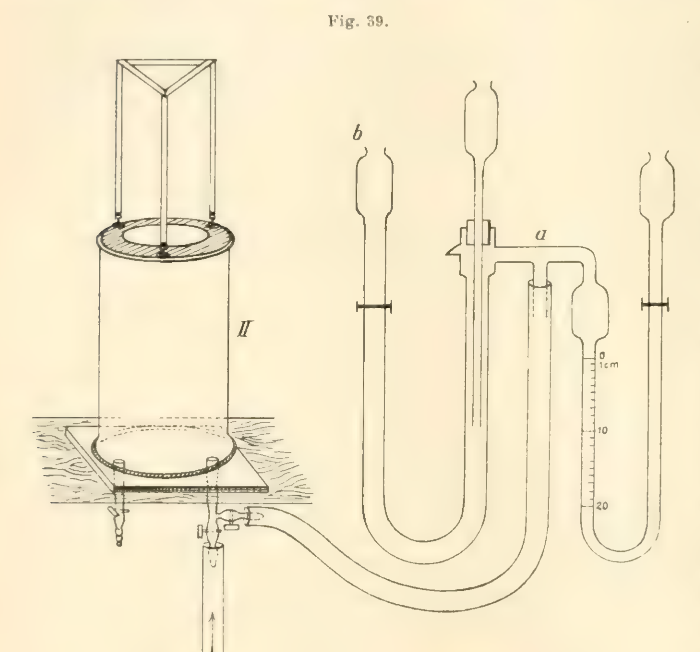
Zur Anzeige des erreichten Luftdruckes dienen entweder Quecksilber- oder Zeigermanometer, welche direkt an einer Skala Atmosphären abzulesen gestatten. Auch die gewöhnlichen Barometer und Aneroïde sind verwendbar. Registrierbarometer, sogenannte „Barographen", werden ganz ähnlich den Hygrographen hergestellt und es gilt von ihnen ganz analoges bezüglich Gangzeit usf. Zur Kontrolle dienen gute Aneroïde oder Quecksilberbarometer.

Um automatisch einen bestimmten Luftdruck in einem Rezipienten zu erhalten und dabei auch immer genügend frische Luft zu bekommen, läßt sich eine von *Ostwald* für Quecksilberfüllung angegebene Versuchsanordnung benutzen, indem an Stelle des Quecksilbers, das schädliche Wirkung auf den Organismus auszuüben imstande ist, Wasser substituiert wird, was lediglich eine Verlängerung aller Röhren notwendig macht.

Dieser Apparat besteht für Luftverdichtung (Fig. 39) aus zwei kommunizierenden U-Röhren ungleicher Weite, deren Verbindungsstück *(a)* einen dritten Ansatz zum Anschlusse an den der Verdichtungsluftpumpe angeschlossenen Rezipienten *(II)* trägt. Die beiden weitest auseinanderliegenden Äste der U-Röhren sind nach oben ausgeweitet und offen, der zweite Schenkel der dickeren Röhre ist oben von einem Kautschukstöpsel durchbohrt, in dem selbst wieder ein oben offenes und ausgeweitetes Röhrchen *(b)* verschiebbar durchläuft.

Beide U-Röhren werden von ihrem freien Ende her mit Wasser gefüllt, bis ein als 0-Punkt bezeichnetes Niveau erreicht wird. Das dünne U-Röhrchen trägt eine Graduierung in Zentimeter und eventuell Teilungen derselben.

Fig. 39.



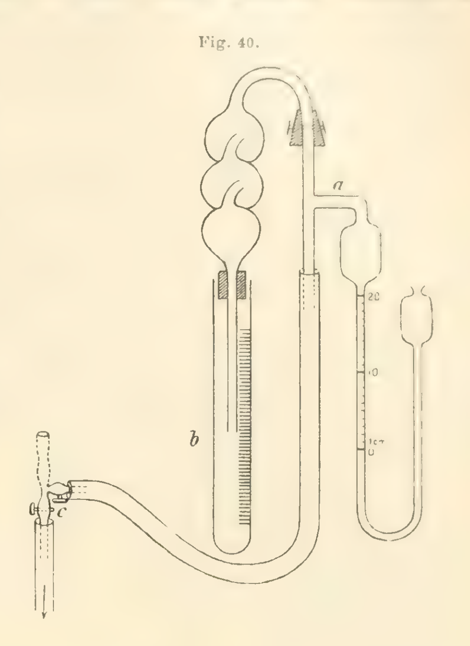
Wird nun Luft unter Öffnung der zuführenden Druckluftleitung[1]) in den Rezipienten und damit auch nach Öffnung des den Automaten absperrenden Hahnes *(c)* in das U-Röhrensystem getrieben, so verdrängt sie das Wasser aus den inneren Schenkeln der beiden U-Röhren und die Zentimeter, welche an dem engeren U-Röhrchen abgelesen werden, geben den halben jeweils erreichten Druck der Wassersäule an, welcher die Luft das Gleichgewicht hält (kann also leicht mittelst Division durch die Dichte des Quecksilbers auf Quecksilberdruck reduziert werden). Das verschiebbare Röhrchen im inneren Schenkel der weiteren U-Schlinge dient dazu, um bei Erreichung des gewünschten Druckes eine automatische Entweichung der überschüssigen Luft zu bewirken, sobald das untere Ende des Röhrchens aus dem Wasser taucht und der Innenraum der kommunizierenden Röhren mit der Außenluft in Verbindung tritt.

Der analoge Apparat für Luftverdünnung (Fig. 40) trägt an Stelle der weiteren U-Röhre ein mit mehreren Erweiterungskugeln versehenes Röhren-

[1]) Vgl. Fig. 22, *II*.

ende, an dem sich ein weiterer Kolben *(b)* verschieben läßt. Ist die an der Graduierung der U-Schlinge ablesbare Verdünnung erreicht, welche gewünscht wird, so wird der Kolben so lange nach abwärts verschoben, bis das eintauchende Röhrchenende eben das Wasser im Kolben verläßt. Die durch das freigewordene Ende einströmende Luft verhindert ein weiteres Sinken des Luftdruckes. Bei rasch arbeitender Saugpumpe [1]) ist es bequemer, die Graduierung am verschiebbaren Kolben *(b)* anzubringen, welche dann den Wasserdruck direkt (ohne Multiplikation mit 2) ablesen läßt.

Fig. 40.



Beide Apparate können entweder unter dauernder Pumpung automatisch arbeiten oder auch bei Unterbrechungen nach jedesmaligem Versperren der Anschlußhähne den gewünschten Druck längere Zeit erhalten; im letzteren Falle müssen aber die Rezipienten und Hähne sehr dicht abschließen.

4. Mechanische Agenzien.

Für dauernde Beeinflussung kommen mechanische Agenzien bei Tieren selten in Betracht. Höchstens Erschütterungen oder Drucklagen bei Eiern.

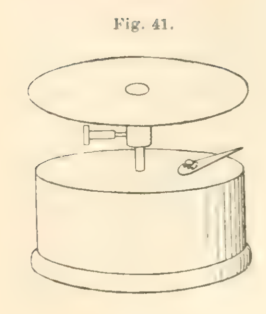
Einschlägige Apparate, wie das *Ziegler*sche Durchströmungskompressorium [2]) werden bei *Hermann Albs*, Werkstätte für Präzisionsinstrumente. Freiburg i. B., angefertigt.

5. Schwerkraft.

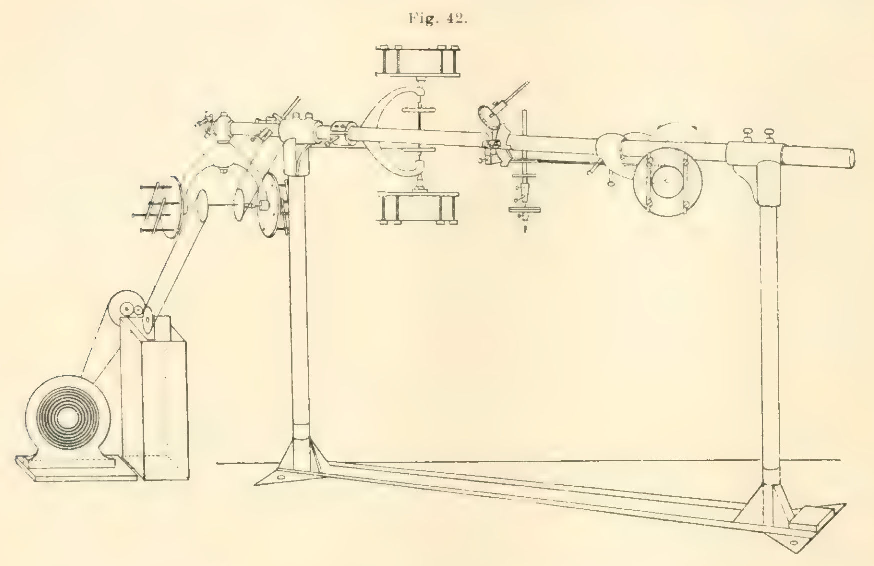
Die Veränderung der Schwerkraftswirkung geschieht mittelst Klinostaten und Zentrifugen. Die ersteren erlauben eine Ausschaltung der normalerweise einseitigen Anziehung durch die Erde, die letzteren dienen zur Verlegung einer starken Schwerkraftwirkung nach einer gewünschten Richtung. In beiden Fällen läßt sich die gewünschte Massenwirkung durch langsamere oder schnellere Umdrehung der rotierenden Teile erzielen und nach dem Massengesetze berechnen.

[1]) Eine Wirkung, welche mit jeder Kompressionspumpe zugleich erreicht werden kann, vgl. Fig. 22, *I*.

[2]) *H. E. Ziegler*, Ein Kompressorium mit Durchströmung. Zoolog. Anz. 1894; Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie. 1897.


Fig. 41.

Klinostaten werden entweder mit Uhrwerk (nach *Wiesner*, Fig. 41) im Gange gehalten oder mit motorischer Kraft (Elektrizität nach *Figdor* und *Portheim*, Fig. 42). Letztere Methode [1]) hat den Vorteil, daß ein kontinuierlicher Betrieb und eine größere Anzahl Versuche nach den drei aufeinander senkrechten Rotationsrichtungen zugleich durchgeführt werden, erstere den der viel geringeren Kosten und leichterer Transportfähigkeit. Die Klinostaten werden in den botanischen Laboratorien vielfach angewendet; für Tiere kommen

Fig. 42.


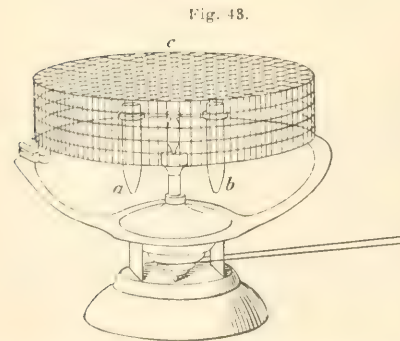


Fig. 43.

sie weniger in Betracht, da diese selten festsitzend sind und daher sich durch eigene Bewegung wieder in die normale Schwerkraftswirkung einstellen; selbst bei Eiern ist eine Zwangslage notwendig, um den Inhalt vor der Drehung in die normale Erdanziehungsrichtung zu verhindern.

Hingegen lassen sich durch starkes Zentrifugieren die einzelnen Reservestoffe der Eier nach ihrer Schwere trennen. Am handlichsten sind die jetzt überall erhältlichen kleinen, elektrisch oder mit einer Kurbel zu betreibenden Zentrifugen (Fig. 43), welche

[1]) Beschreibung des Apparates, der übrigens aus der Abbildung verständlich ist, vgl. Die Biologische Versuchsanstalt in Wien, Bericht, l. c. S. 259.

mit zwei nach entgegengesetzten Richtungen fliegenden Metallhülsen *(a, b)* versehen sind. Zur Einbringung der Eier dienen Gläschen, welche in diese Hüllen passen. Ein aufklappbarer Schutzkorb *(c)* verhindert Unfälle bei etwaigem Abschleudern von Teilen.

Einen Rotationsapparat mit einer großen, motorisch betriebenen Drehscheibe für horizontale Bewegung samt der Berechnung der Zentrifugalkraft gibt *Stanislaus v. Stein*[1]) an.

6. Elektrizität und Magnetismus.

Zur Ausschaltung der Luftelektrizität dienen Drahtstürze. Willkürliche elektrische Felder oder Ströme bestimmter Intensität, Quantität und Qualität können mit elektromagnetischen Apparaten im großen unter Verwendung des Straßenstromes hergestellt werden.

Die Verwendung ganzer Käfige solcher Art ist als Arsonvalisation in der Medizin bekannt. Apparate liefern die Fabriken elektrischer, zu mediko-therapeutischen Zwecken dienender Artikel. Versuchsreihen mit langer Kultur der Tiere sind mir aber nicht bekannt und auch keine besondere Einrichtung zur genauen Einhaltung bestimmten elektrischen „Klimas".

Auch magnetische Felder werden mittelst Elektromagneten hergestellt, die z. B. unter ein mit Vogeleiern gefülltes Nest angebracht wurden. Doch ist bisher ein deutlicher Einfluß nicht nachgewiesen worden und Versuche im größeren Stile sowie hierzu dienende Vorrichtungen nicht erdacht worden.

Zur Messung der Stärke eines elektrischen Stromes dienen, wie allbekannt, Voltmeter für Spannung, Ampèremeter für Menge. Zu erwähnen wäre noch die Möglichkeit, aus dem Strome einer bestimmten Art einen anderen mittelst Transformatoren herzustellen. So kann die Versorgung mit Gleichstrom aus einer Wechselstromstraßenleitung entweder unter Einschaltung eines Wechselstrommotors, der eine Gleichstrom liefernde Dynamomaschine betreibt („Wechselstrom-Gleichstromaggregat") oder unter Benützung eines Quecksilberdampf-Gleichrichters[2]) geschehen. Die Anschaffung des letzteren und der Betrieb für geringe Anforderungen ist billiger, hingegen arbeitet für bedeutende Beanspruchung ein Aggregat klagloser.

Bei Bestellung elektrischer Apparate vergesse man nie genau die Art des zur Verfügung stehenden Straßenstromes (ob Gleich-, Dreh-, Wechselstrom mit einer oder zwei Phasen etc.), seine Spannung (meist 110—250 Volt) sowie die maximale Strommenge in Ampère anzugeben; dasselbe gilt für den gewünschten Strom bei Transformation.

[1]) *St. v. Stein,* Die Wirkung des kontinuierlichen Zentrifugierens auf die Entwicklung von Eiern, Kücken, Fischen und Meerschweinchen. Verlag der Universitätsklinik für Ohrenleiden, Moskau. Durch den Buchhandel zu beziehen von Oskar Leiner, Leipzig, Königstraße 26B (deutsch).

[2]) Zu beziehen von der Westinghouse Cooper Hewitt-Gesellschaft, Berlin, SW. 48, Wilhelmstraße 131 (von 250 Mk. an).

7. Licht und andere strahlende Energie.

Die Abänderung der Belichtungsverhältnisse bezieht sich auf die Qualität der Strahlen, auf deren Einfallungsart und auf die Intensität der Bestrahlung.

In der Natur sind die Tiere in der Regel einen Teil des Tages dem zusammengesetzten weißen Lichte exponiert, und zwar fallen die Sonnen- (oder Mondes-)strahlen entweder direkt auf die Oberfläche des Tieres oder werden erst auf dieses von der Umgebung reflektiert, die auch bei bedecktem Himmel zerstreutes Licht empfängt.

Das Tageslicht ist einer genauen Regelung infolge der wechselnden Bevölkerung in unseren Klimaten schwer zugänglich; man benützt die Aufstellung an Fenstern, welche nach verschiedenen Himmelsrichtungen sehen, aber sonst ähnliche Größen- und Beschattungsverhältnisse durch Bäume, gegenüberstehende Gebäude usf. besitzen, um entweder auf der Südseite direkt einfallende Sonne oder auf der Nordseite bloß zerstreutes Tageslicht oder an der Ost- und Westseite dazwischen liegende Verhältnisse zu erlangen. Sollen die Sonnenstrahlen in möglichster Intensität auf einen Punkt gelenkt werden, so bedient man sich eines Heliostaten, der mit Uhrwerk sich so dreht, daß er gerade dem Laufe der Sonne folgt.

Alle diese Maßregeln können weder eine zu gleicher Tageszeit gleiche, noch weniger eine konstant gleiche Beleuchtung hervorrufen.

Eine solche kann nur durch künstliche Lichtquellen erzielt werden, wobei allerdings wieder die große Beleuchtungsstärke ohne wesentliche Erhitzung des Raumes Schwierigkeiten bereitet.

Durch vorgeschaltete Wassergefäße, die eventuell von fließendem Wasser stetig nachgespeist werden, läßt sich die Bestrahlungswärme reduzieren. Eigene „Lichtthermostaten“ sind von *Plotnikow*[1]) für photochemische Zwecke konstruiert und kommen für Mikrokulturen in Betracht. Wollen wir künstliches Licht in bestimmter Intensität und Qualität zur Einwirkung bringen, so müssen wir zunächst für die Ausschaltung des weißen Tageslichtes Sorge tragen.

Ein gleiches gilt in erhöhtem Maße, wenn wir den Einfluß vollkommener Finsternis (also einer Lichtintensität 0) studieren wollen.

Die Verdunkelung der Objekte geschieht bei geringer Größe durch Blech- oder schwarzüberzogene Holzstürze, die entweder in einen lichtabschließenden Falz oder in eine Sandunterlage eingestellt werden. Empfehlenswerter ist aber in den meisten Fällen die Benutzung einer biologischen Dunkelkammer, welche für größere Objekte und Versuchsreihen ohnehin unerläßlich ist, denn die Manipulation unter den Dunkelstürzen, die Ventilation, die lichtdichte Anbringung von Wasser- oder Luftleitungsanschlüssen usf. ist sehr schwierig und nie einwandfrei.

Bei Anlage biologischer Dunkelkammern ist auf die Beseitigung aller Fugen und Ritzen der größte Wert zu legen, da selbst sehr geringe Licht-

---

[1]) *J. Plotnikow,* Photochemische Versuchstechnik. Akad. Verlagsgesellsch. Leipzig 1912. Apparate sind zu haben bei *Fritz Köhler,* Leipzig.

intensitäten, die selbst für photographische Prozesse kein Hindernis abgeben, die Reinheit des Versuches zu stören imstande sind. Unbedingt notwendig ist ein Vorraum, der bereits selbst lichtdicht verschließbar ist, denn sonst muß stets beim Öffnen der Türe durch den Experimentator etwas Licht eindringen. Die Beleuchtungslampen, welche für eventuelle Beobachtungen mit den Augen (in vollkommener Finsternis muß die Beobachtung durch Tasten geschehen) angebracht sind, sind mit rotem Glase versehene Glühlampen, die nicht von außerhalb der Kammer aufgedreht werden können. Erfahrungsgemäß können sonst leicht Unbefugte, ja der Experimentator selbst, die Lampen aufdrehen, in der Meinung, am Ausschalter das Licht abzudrehen.

Ein dunkler Anstrich der Dunkelkammer wäre für vollkommene Finsternis, falls keine selbstleuchtenden Stoffe eingebracht werden, nicht erforderlich, doch empfiehlt es sich, die Wände und die Decke mattgrau zu streichen, wenn die Dunkelkammer auch für die Versuche mit konstanter oder sonst willkürlich gewählter Beleuchtung dienen soll, um die starke Reflexion an hellen Stellen zu vermeiden.

Als Lichtquellen sind die elektrischen, bereits für bestimmte Kerzenstärke bezeichneten Glühlampen, und zwar die mit Metallfäden aus gezogenem Draht (Osram u. a.), welche in den verschiedensten Stärken (5 bis 100 und darüber) in den Handel kommen, ihrer Handlichkeit, Billigkeit und Haltbarkeit wegen allen anderen weitaus vorzuziehen. Für sehr hohe Intensitäten kommen außerdem Bogenlampen und wo eine Azetylenleitung besteht, Azetylenlampen in Betracht; doch ist der Geruch der letzteren lästig und aus diesem Grunde, wo keine Leitung besteht, entschieden abzuraten, die transportablen Radfahr- oder Autolampen zu verwenden.

Die Bestimmung der Lichtstärke einer Lichtquelle geschieht durch den Vergleich ihrer Wirkung mit einem als Norm geltenden Standardlichte.

Doch genügt für biologische Zwecke bis jetzt vollauf die Verwendung einer mit einem Standardlichte an einer Technik oder sonstigen einschlägigen Anstalt verglichenen Glühlampe, soferne diese nicht zu lange im Gebrauche gehalten wird.

Die Vergleichung der zu prüfenden Lichtquelle geschieht mit einem Fettfleckphotometer (nach *Bunsen*), dessen Prinzip darauf beruht, daß die Normallichtquelle und zu prüfende auf entgegengesetzten Seiten eines mit einem Fettflecke gezeichneten Papierschirmes aufgestellt und so lange verrückt werden, bis dieser von keiner Seite mehr sichtbar ist.

Dann ist die von jeder Seite empfangene Lichtmenge für den Fettfleck gleich.

Da nun die Lichtintensität mit der Entfernung der Lichtquelle im quadratischen Verhältnisse abnimmt, so folgt nach Abmessung der Distanz jeder der beiden Lichtquellen (a, a') vom Fettflecke, da außerdem die Stärke (i) der Normallichtquelle (d. i. ihre Intensität in der Entfer-

nung 1) bekannt ist, die Stärke (i') der zu prüfenden Lichtquelle aus der Formel:

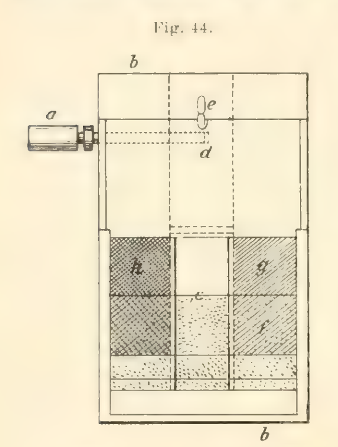
$$i' = i \cdot \frac{a'^2}{a^2}.$$

Dieselbe Formel kann dazu verwendet werden, um unter Zuhilfenahme verschiedener Entfernung von einer Lichtquelle zu gleicher Zeit bestimmt abgestufte Intensitäten zu berechnen. Zu diesem Zwecke empfiehlt es sich, ein Meßband längs der Aufstellungsfläche ausgespannt zu befestigen, um jederzeit rasch die Entfernung ablesen zu können.

Zur raschen Bestimmung hoher Lichtintensitäten mit weit entfernter Lichtquelle (Sonne) oder zur Prüfung von Registrierstreifen für Lichtintensitäten bedient man sich der photographischen Methode.

Der zuerst von *Wiesner* angegebene Vorgang zur Messung des „Lichtgenusses" beruht auf der Vergleichung der mit der Stoppuhr gemessenen Zeit, welche ein noch unbelichtetes photographisches *(Bunsen-Eder-)*Papier[1]) braucht, um denselben Farbenton anzunehmen, wie die dem kleinen Apparate mitgegebenen, fixierten Normaltöne besitzen.

Fig. 44.



Diese Normaltöne sind daraufhin geprüft, welche Lichtstärke sie in einer bestimmten Zeit mit dem betreffenden Farbentone versorgt hat.

Eine Gelbscheibe erleichtert die Vergleichung der fixierten Töne mit denen des frischbelichteten Papieres, welches oft einen anderen Farbton aufweist, der die Intensitätsprüfung erschwert, und verhindert eine weitere Einwirkung der chemischen Strahlen auf das exponierte Papier.

Um eine größere Anzahl von Aufnahmen rasch hintereinander bequem ausführen zu können, hat neuestens *V. Vouk*[2]) den Apparat (Fig. 44 von oben gesehen) mit zwei Spulen *(c, d)* versehen, auf deren eine *(c)* das lichtempfindliche Papier aufgewickelt ist, während es nach Belichtung durch Linksdrehen einer Kurbel *(a)* auf die andere Spule *(d)* überwickelt wird. Die Gelbscheibe *(f*, punktiert) läuft in einem Geleise, so daß sie bei Schiefstellung der Kassette leicht über das exponierte Papier gleitet. Zu beiden Seiten des in einer mittleren Ausnehmung des zur Füllung der Spulen abhebbaren Deckels *(b, b)* sind auf einem ebenfalls an gleicher Stelle durchbrochenen Metallrähmchen, das mit einem Reiber *(e)* auf dem Deckel befestigt ist, Vergleichstöne *(g, h)* angebracht.[3])

[1]) *J. Wiesner,* Lichtgenuß der Pflanzen. Leipzig 1907.

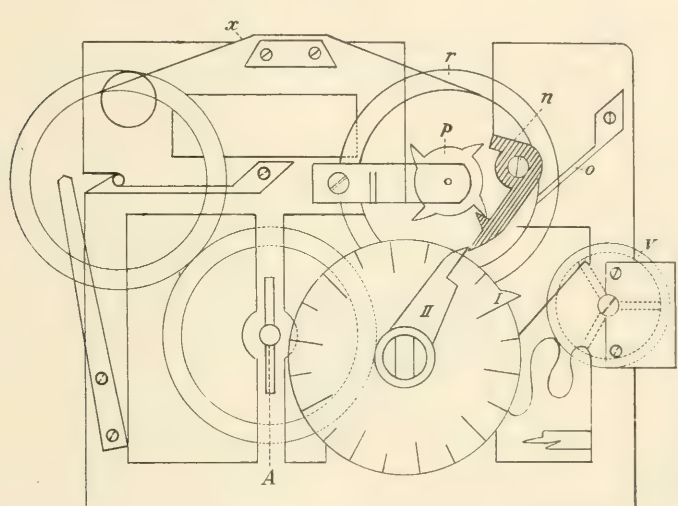
[2]) *V. Vouk,* Ein verbesserter, neuer *Wiesner*scher Insolator zur Bestimmung des Lichtgenusses. Ber. d. Deutschen bot. Ges. XXX. 1912 (S. 391. Fig. 1).

[3]) Beide Insolatoren werden von der Firma *R. Lechner,* Wien, Graben, in den Handel gebracht.

Um eine fortdauernde Registrierung der Lichtintensitäten zu erreichen, werden lichtempfindliche Papiere auf Uhrwerktrommeln aufgespannt, die je nach dem näheren Zwecke eine verschiedene Einrichtung erfahren haben. Die Manipulation des Aufspannens erfolgt jedenfalls in der Dunkelkammer bei rotem Lichte.

Der Registrierapparat von *Sameč* und *Jenčič*[1]) besteht aus einem lichtdichten Holzkasten, einem Metalldeckel zu diesem, einem Uhrwerk (Fig. 45) und dem lichtempfindlichen Papier *(x)*, das durch das Laufwerk an einer im Metalldeckel ausgelassenen 2 *cm* breiten Öffnung vorübergeführt wird. Das Uhrwerk mit Ankergang treibt eine Achse, auf welcher eine in 300 Teile geteilte Scheibe *(r = 2·5 cm)* steckt. Diese trägt beim

Fig. 45.



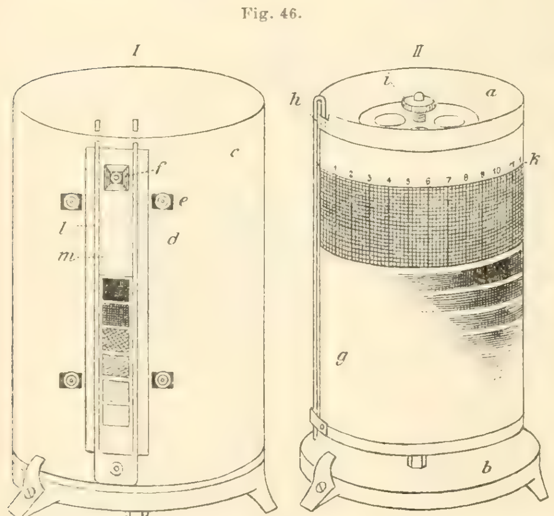
Teilstrich 0 einen 0·15 *cm* langen, vorspringenden Zapfen *I* und einen auf der Scheibenachse beliebig verstellbaren, in einen Zapfen auslaufenden Zeiger *II*. Die Umlaufszeit der Scheibe beträgt zirka 5 Minuten und könnte bei Bedarf durch Beeinflussung der Uhrunruhe *(v)* variiert werden. Bei der Rotation der geteilten Scheibe wird durch den Zapfen *I* ein Anker *(n)* ausgelöst, der durch eine Feder *(o)* gegen ein vierzahniges Zahnrad *(p)* gedrückt wird. Jetzt rotiert dieses, getrieben durch eine im Gehäuse untergebrachte Feder samt der mit ihm auf der gleichen Achse sitzenden Trommel *(r)* um 90° und schiebt dabei das in die Trommel eingeklemmte lichtempfindliche Papier um ein bestimmtes Maß (in unserem Falle um 2·5 *cm*) fort, wodurch dieses exponiert wird. Das Papier bleibt

[1]) *M. Samec* und *A. Jenčič,* Über ein selbstregistrierendes Photometer. Sitzungsbericht Akad. Wissensch. Wien. CXIX. Abt. IIa. Mathemat.-naturwissenschaftl. Klasse. S. 1571. 2 Taf. 1910. Der Universitätsmechaniker *L. Castagna* in Wien fertigt diesen Apparat an.

so lange dem Licht ausgesetzt, bis der willkürlich verstellbare Zeiger *II* den Anker zum zweiten Male auslöst und das Papier um die gleiche Strecke fortzieht. Die Expositionszeit beträgt je nach der Einstellung 3 Sekunden bis 5 Minuten. Die nun freigewordene Papierfläche bleibt so lange in Ruhe, bis wieder der Zapfen *I* den Anker auslöst, also: Umlaufszeit der Scheibe weniger der Expositionszeit. Die Umdrehungsgeschwindigkeit der Trommel beträgt zirka 1 Stunde, so daß sich das lichtempfindliche Papier bei jedem Sprunge nur 0·25 Sekunden in Bewegung befindet. Sobald das Papier eingeführt ist, wird der Deckel aufgesetzt, das Uhrwerk mittelst festen Schlüssels *(A)* aufgezogen und in Gang gesetzt.

Der Papierstreifen zeigt nach der Exposition zweierlei belichtete Felder, die durch unbelichtete schmale Streifen voneinander getrennt sind. Die während fast 5 Minuten langen Expositionszwischenzeiten bekommen bei hoher Lichtintensität so starke Schwärzung, daß Unterschiede der Helligkeit nicht mehr zu unterscheiden sind, umgekehrt werden bei geringen Intensitäten die während kürzerer Expositionsdauer belichteten Felder zu wenig beeinflußt sein. Die Vergleichung der Schwärzungsintensitäten, ebenso wie die Berechnung der Lichtintensitäten geschieht mit Hilfe des *Wiesner*schen Apparates.

Fig. 46.



Andere Gesichtspunkte haben mich bei der Konstruktion meines „Phänographen" [1]) geleitet. Es hat sich mir darum gehandelt, erstens eine ganz kontinuierliche Registrierung der Lichtstärke, zweitens eine automatische Summierung der an den aufeinanderfolgenden Tagen zu g l e i c h e r Tageszeit angetroffenen Intensitäten, endlich drittens eine als Kurve ablesbare Tönung zu erreichen.

Der Phänograph (Fig. 46, *I* mit aufgesetztem, *II* mit abgenommenem Sturze) besteht aus einer mittelst Uhrwerk in 24 Stunden einmal um ihre Vertikalachse rotierenden Trommel *(a)*, aus einem nicht mitrotierenden Untersatz *(b)* und aus einem lichtdicht in den kreisförmigen Rand des Untersatzes einschraubbaren zylindrischen Sturz *(c)*. Der letztere trägt an einer Seite seiner Höhe noch einen Schlitz *(d)*, welcher durch zwei gegen-

[1]) Die ausführliche Beschreibung dieses Apparates, den ich im Jahre 1910 konstruieren ließ, wird in der Zeitschrift für Biologische Technik und Methodik erfolgen. Die Herstellung der Phänographen besorgte der Mechaniker *H. Dümler*, Wien, IX., Schwarzspanierstraße.

einander verschiebbare und mit Schrauben *(e)* festzustellende keilförmige Schneiden *(f)* verengert bis ganz geschlossen werden kann. Wird die Trommel in der Dunkelkammer bei rotem Lichte mit lichtempfindlichem Papier *(g)* überspannt, welches mittelst einer Feder *(h)* festgehalten wird und der Apparat durch Drehung eines Knopfes *(i)* aufgezogen, mit dem Sturze bedeckt und an das Licht gestellt, so entscheidet die Einstellung dieser Schneiden, wie lange jeder Vertikalstreifen des Papieres der Belichtung ausgesetzt bleibt. Ist der Umfang der Trommel mit 24 *cm* angefertigt (Graduierung in Millimeter bei *k*), so wird bei einer Spaltweite von 1 *cm* das Papier eine Stunde lang der Belichtung zugänglich bleiben; wird der Spalt auf 1 *mm* verengt, so wird bei dieser Einstellung jede Papierstelle bloß $^1/_{10}$ Stunde gleich 6 Minuten der Belichtung zugänglich sein.

Um die Belichtungsintensität einer Woche zu erhalten, ist das Uhrwerk mit 7tägiger Ablaufsdauer konstruiert; da aber in einem Tage bereits jeder Teil des Papieres einmal den Spalt passiert hat, so wird nun jedesmal zu gleicher Tagesstunde derselbe Streifen abermals der Belichtung zugänglich, so daß sich die Schwärzung der lichtempfindlichen Schichte summiert.

Um den Durchschnitt der Belichtung für eine bestimmte Tageszeit während einer Woche zu erhalten, wird vor den Schlitz in ein an dem Sturze befestigten Rähmchen *(l)* ein Lichtschirm *(m)* eingeschoben, der in seinem oberen Teile mit einem Visierwinkel, in seinem unteren mit sieben horizontal übereinander liegenden Abschnitten versehen ist. Der oberste Abschnitt ist leer, so daß er die gesamte Lichtintensität durchläßt, der zweite mit einem Blättchen eines dünnen Papieres überklebt, das $^1/_7$ der Lichtintensität zurückbehält, der dritte mit zwei solchen Blättchen usf., bis der sechste $^6/_7$ zurückbehält. Die Schwärzung unter diesem Schirmteile zeigt dann den Durchschnitt der Lichtintensität zu jeder Stunde der Woche an.

Die Verbindung der Stellen eben merklicher Schwärzung ergibt eine Kurve, deren tiefster Punkt die höchste Lichtintensität (also gewöhnlich zu Mittag), deren höchste Punkte die geringste Lichtintensität (Mitternacht) bezeichnen.

Zur Bestimmung der absoluten Lichtintensitäten dienen unbelichtete Stücke des zur Trommelspannung verwendeten photographischen Papieres, welche unter dem Lichtschirmchen der Einwirkung eines Lichtes bestimmter Kerzenstärke in gemessener Distanz ausgesetzt werden. Sowohl diese Kontrollpapiere als auch die Registrierstreifen lassen sich auf dem gewöhnlichen photographischen Wege fixieren (z. B. mit Natron).

Große Schwierigkeiten bietet es, wenn eine bestimmte Farbqualität in einer mit einer anderen Farbe vergleichbaren Intensität zur Anwendung gebracht werden soll.

Mittel, um überhaupt färbiges oder auch annähernd Licht einer Wellenlänge einwirken zu lassen, sind folgende:

a) Färbige Flammen: Bogenlampen mit verschiedenen Farbkohlen; Natriumflamme für gelb ($\lambda = 0·59\ \mu$), Lithium rot ($\lambda = 0·67$ und $0·61$),

Thallium grün ($\lambda = 0·54$), Indium blau und violett ($\lambda = 0·46\ \mu$ und darüber hinaus).

b) Färbige Lösungen: Rot bis Fraunhofer-Linie C: Fuchsin in Alkohol, doppelschwefelsaures Jod: gelb D bis E Kaliumchromat, grün E bis b Nickelnitrat, blau F bis $F^1/_3$ G. Berlinerblau, F bis H ammoniakalisches Kupfersulfat, violett G bis H Parmaviolett.

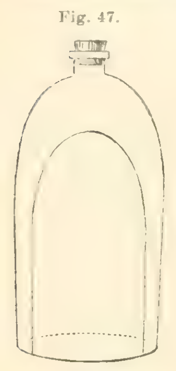
c) Färbige Gläser: rot Rubinglas sowie sonstige Farben bei *Schott & Gen.*, Jena, erhältlich.

d) Färbige Pigmente: Rot bis C: Zinnober, orange etwa C Minium, goldgelb etwa D Bleioxydul, gelb D bis E chromgelb, etwa E grüngelb Bleichromat, grün E bis b *Scheels* Grün (giftig), F bis $F^1/_3$ G Berliner, von da bis G ultramarin-blau.

e) Brechung durch das Prisma: *Reinkes*[1]) „Spektrophor".

Von diesen Methoden liefert bloß die letzte wirklich homogenes Licht der gewünschten Wellenlänge, ist aber dafür praktisch für längeres Halten der Tiere wenig geeignet. Leichter lassen sich konstante Flammen zur Einwirkung bringen, doch muß auf die meist nicht gleichgültigen Gase durch entsprechende Ventilation (am besten sind die Versuchstiere durch Glas von der Lichtquelle getrennt) Rücksicht genommen werden. Für färbige Lösungen müssen doppelwandige Gefäße dienen; für kleine Objekte genügen die doppelwandigen *(„Sennebier")*-Sturzflaschen (Fig. 47), welche von oben her mit der Flüssigkeit gefüllt werden können. Färbige Gläser sind recht bequem, aber die Intensität der verschiedenen Farben ist selten nur annähernd gleich, auch geht meist zu viel Licht verloren.

Fig. 47.



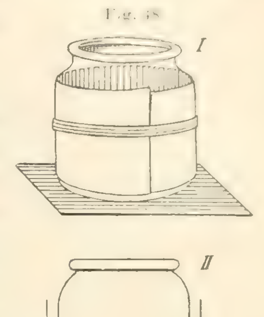
Färbige Pigmente lassen sich auf Papiere aufgetragen (im Handel erhältliches färbiges Papier[2]) bloß für reflektiertes, nicht aber für durchfallendes Licht verwenden. Färbige Gelatine läßt sich als Aushilfe für die Bedeckung verwenden. Bei der Verwendung von Farbpapieren dürfen dieselben nicht mit den Tieren oder deren nächsten Umgebung in Berührung treten, da sonst die chemische Eigenschaft des betreffenden Pigmentes eine Rolle spielen kann. Am besten ist es, Glasgefäße von außen und unten mit dem färbigen Papier zu umgeben. Runde Gläser sind am einfachsten mit einem rechteckigen Papierstreifen, dessen Länge etwas über den Umfang des Glases, dessen Höhe bis zu dem gewünschten, mit der reflektierten Farbe zu versorgenden Niveau reicht, zu umgeben, indem man mit einem Gummibande die Befestigung vornimmt (Fig. 48). Das umwickelte Glas wird dann noch einfach auf ein gleiches Papier aufgestellt, das nun durch den Glasboden durchscheint. Soll auch beim Aufheben des Glases

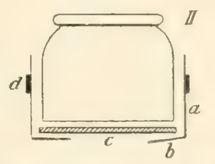
[1]) *J. Reinke*, Untersuchungen über die Einwirkung des Lichtes auf die Samenausscheidung der Pflanzen. II. Mitt. Bot. Zeitg. XLII. 1884.

[2]) Lichthaltbare Papiere in bestimmten Farbentönen liefert die Milton Bradley Co., Springfield, Mass., Vereinigte Staaten von Nordamerika.

die Papierhülle des Bodens mitgehen und andrerseits auch das Glas rasch von der ganzen Papierhülle mit einem Griffe befreit werden, so beklebt man (nach *Megušar*, *II*) einen Streifen dünnen Kartons *(a)* mit dem Papiere, läßt den Streifen höher sein, als es sonst erforderlich wäre, und biegt unter Anbringung schiefer Einschnitte diesen Rand um *(b)*, so daß eine Stütze entsteht, auf die ein rund geschnittener, ebenfalls mit dem farbigen Papiere beklebtes Kartonstück *(c)* aufgelegt werden kann. Der Karton muß steif genug sein, um bei Umwicklung mit dem Gummiband *(d)* stehen zu bleiben.

Fig. 48.



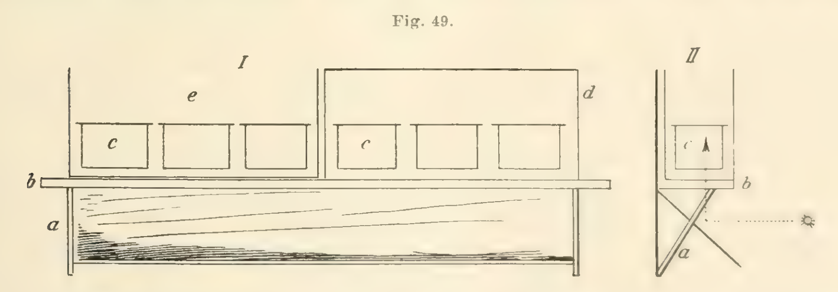


Die Richtung des einfallenden Lichtes ist leichter zu regulieren als Intensität und Qualität.

Man bedient sich hauptsächlich des Glases, eventuell noch eines unter 45° gegen den Glasboden geneigten Spiegels, um von unten her die Behälter zu beleuchten. Versuche über den Einfluß der Lichtrichtung können auf solche Art aufgestellt werden, daß nebeneinander Versuche mit Ober- und Unterbeleuchtung aufgestellt und auch das Licht in einem Versuch abwechselnd von oben und von unten einfallen kann (Fig. 49, *I* Schema von vorne, *II* Querschnitt).

Eine solche Vorrichtung besteht aus zwei Mauerträgern *(a)*, die eine Glasplatte *(b)* tragen. Die Glaswannen *(c)* zur Aufnahme der Versuchsobjekte werden auf diese unter lichtdichten Holzkisten *(d)* gestellt, deren Boden fehlt und deren Deckel aufklappbar ist. Soll von oben beleuchtet werden, so bleibt der Deckel offen *(e)* und unter die Wanne wird ein schwarzes Papier geschoben; soll von unten beleuchtet werden, so wird der

Fig. 49.



Deckel geschlossen und das Papier entfernt. Nötigenfalls wird das durch die unteren Glasplatten verlorene Licht auch bei der Oberbeleuchtung durch Auflegen gleichdicker Glasscheiben kompensiert.

Außer den uns sichtbaren Lichtstrahlen sind wiederholt andere Strahlenarten auf Tiere zur Einwirkung gebracht worden.

Bezüglich der Messung und des Gebrauches von Röntgen-, Kathoden-, Radiumstrahlen usf. verweise ich jedoch auf das zitierte Buch von *Plotnikow;* für biologische Probleme sind diese von untergeordneter Bedeutung, da sie in der freien Natur keine Rolle spielen.

Zur Erzeugung von Ultraviolettlicht dient das Heraeuslicht, welches von elektrischem Gleichstrom gespeist wird (zu beziehen durch Westinghouse-Cooper-Hewitt-Gesellschaft, Berlin SW.).

8. Wärme.

Die Temperatur hat neben der Feuchtigkeit auf biologische Prozesse den größten Einfluß. Es ist daher besonders wichtig, diesen Faktor in unsere Willkür zu bekommen.

Als Wärmequellen dienen neben der Sonnenwärme, welche einer Regulation schwer zugänglich ist, künstliche Heizungen, die mit Kohle, Koks, Leuchtgas oder Elektrizität betrieben werden.

Handelt es sich um kleine Räume bis zu der Größe von Schränken, so bieten die zwei letztgenannten Heizmittel den ökonomischesten und bequemsten Betrieb. Die im Handel erhältlichen „Thermostaten"[1]) bestehen aus Kästen, welche einen sehr gut isolierenden Mantel haben und vom Boden her geheizt werden. Diese Heizung wird sowohl bei der Gas- als auch bei der elektrischen Feuerung derart reguliert, daß bei Erreichung einer bestimmten Temperatur der weitere Zufluß an Leuchtgas, respektive elektrischer Kraft sistiert wird. Es geschieht dies bei den meisten Thermostaten durch das Steigen einer Quecksilbersäule, welche das Gas drosselt, respektive einen elektrischen Reléekontakt ausschaltet.

Zur Einstellung und Kontrollierung der Temperatur benützt man Quecksilberthermometer (mit der 100teiligen Gradskala nach Celsius), welche selbst wieder mit geaichten „Normalthermometern" verglichen sein sollen, denn Abweichungen um ein Grad sind bei der gewöhnlichen Handelsware keine Seltenheit. Für die meisten biologischen Zwecke genügt Einteilung in Grade oder halbe Grade, für genaue Messungen sind in Zehntel geteilte Normalthermometer zu verwenden. Die Skala des Thermometers soll deutlich lesbar sein und die Gestalt des Instrumentes derart, daß nicht Spiegelungen den Stand des Quecksilbers unklar erscheinen lassen.

Zur Registrierung der Temperaturen finden „Thermographen" Verwendung, die ganz analog den Hygro- und Barographen konstruiert sind und von denselben Firmen wie diese bezogen werden können. Ihre Einstellung geschieht nach dem Normalthermometer, indem die Stellschraube (Fig. 50 S) so lange mittelst Schlüssels gedreht wird, bis die Feder auf dem mit dem Normalthermometer übereinstimmenden Grade des Registrierpapierstreifens zu stehen kommt. Beim Bezuge des Apparates sind die Temperaturintervalle, für welche er gelten soll, anzugeben und auch dementsprechend die Papierstreifen zu bestellen.

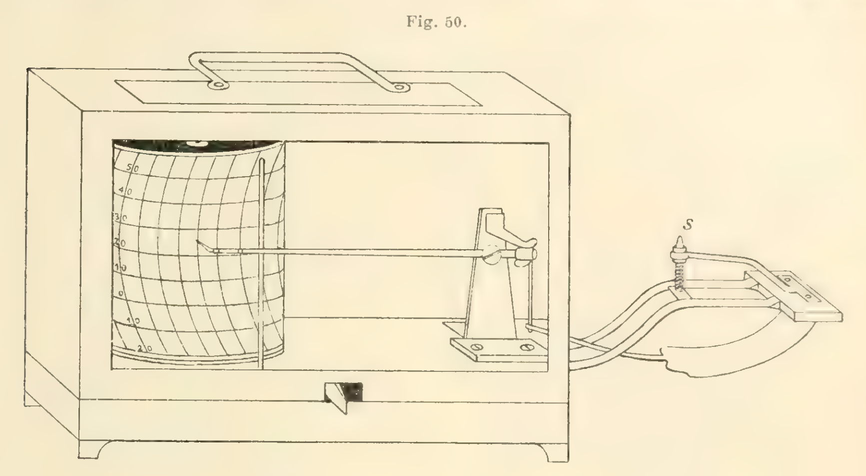
Bei hohen Temperaturen muß wegen des raschen Austrocknens die Kopiertinte in der Schreibfeder öfters nachgefüllt werden.

[1]) In den Handlungen für elektro-medizinische Apparate sind diese Vorrichtungen erhältlich.

Zur Beheizung größerer Räume eignet sich weder offenes Gas, noch Elektrizität; ersteres wegen der Luftverderbnis, wenn es sich in dem Versuchsraume selbst befindet, letztere wegen ihrer Kostspieligkeit und der geringen Dauerhaftigkeit der Drahtspiralen, welche die Wärme erzeugen.

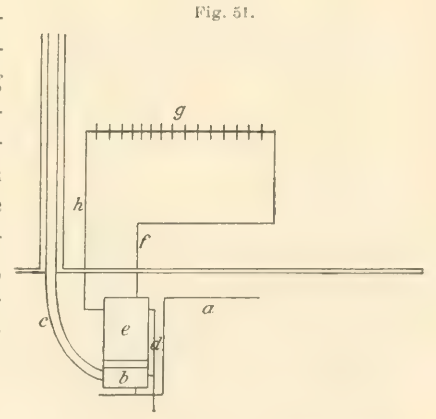
Als Heizkörper dienen am besten Warmwasser- oder Niederdruckdampfheizungsrohre, welche von einem Kohlen- oder Kokskessel aus gespeist werden.

Fig. 50.



Die Koksfeuerung verdient wegen der geringeren Rauchentwicklung den Vorzug. Die Erzeugung der für die Zentralheizungsanlage notwendigen Wärme kann aber auch mittelst Gaskesseln geschehen, die den Vorzug haben, automatisch eine größere oder geringere Menge Dampf nach Bedarf zu erzeugen (System Ascania, Dessau; Schema Fig. 51; *a* Gaszuleitung, *b* Gasbrenner, *c* Gasabzug, *d* Regulator, *e* Dampfkessel, *f* Dampfzuleitung, *g* Heizschlange, *h* Kondenswasserrückleitung).

Fig. 51.



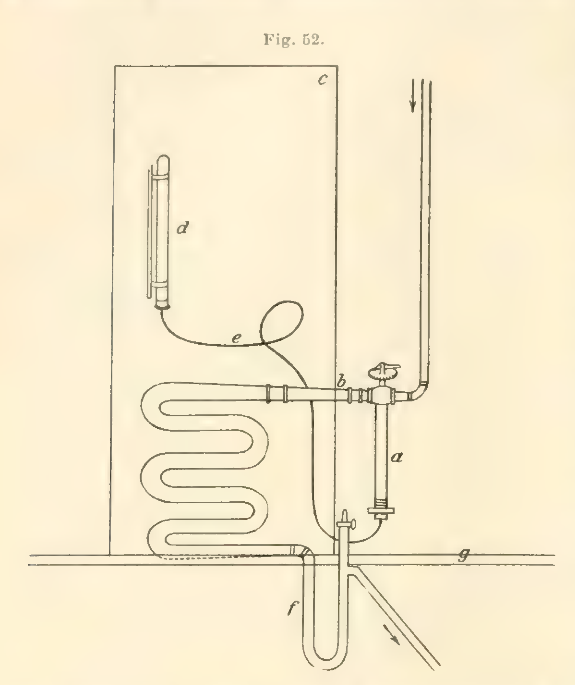
Wo ein Anschluß an eine bestehende Zentralheizung mit permanentem Betriebe vorhanden ist, arbeitet diese billiger, jedoch muß auf die Einhaltung eines konstanten Druckes durch Anbringung eines guten Luftzufuhrregulators (Schwimmer) und sorgsame Wartung gesorgt werden. Für hohe Temperaturen ist die Nähe des Abnahmeortes der Wärme vom Kessel von ökonomischem Vorteile.

Größere Zimmer oder Kammern, welche zur Konstanthaltung der Temperatur eingerichtet werden sollen, sind von vorn herein so zu wählen, daß sie zwischen oder in Räumen gelegen sind, die bereits selbst keinen allzu großen Temperaturschwankungen ausgesetzt sind.

Dicke, aus gut isolierenden Substanzen bestehende Wände, wenig Türen und Fenster, keine gläserne Bedachung für diese „Außenräume“ garantieren ein besseres Funktionieren der thermostatischen Kammern.

Zur Konstanthaltung der Temperatur werden „Temperatoren“ (Fig. 52, Schema, *a*) angebracht, die automatisch bei Erreichung der gewünschten Temperaturgrade das Heizungsrohr (*b*), welches in die betreffende Kammer (*c*) eintritt, noch außerhalb dieses Eintrittes im Außenraum drosseln und endlich ganz abschließen, um bei Sinken der Temperatur einige Zehntel Grade unter die gewünschten Grade wieder allmählich zu öffnen. Von diesen Temperatoren gibt es verschiedene Systeme, die alle darauf hinauslaufen, daß eine in einem „Aufnahmekörper“ (*d*) befindliche Flüssigkeit durch verschiedene Dampfspannungsentwicklung bei verschiedenen Temperaturen die Absperrung betätigt.

Fig. 52.



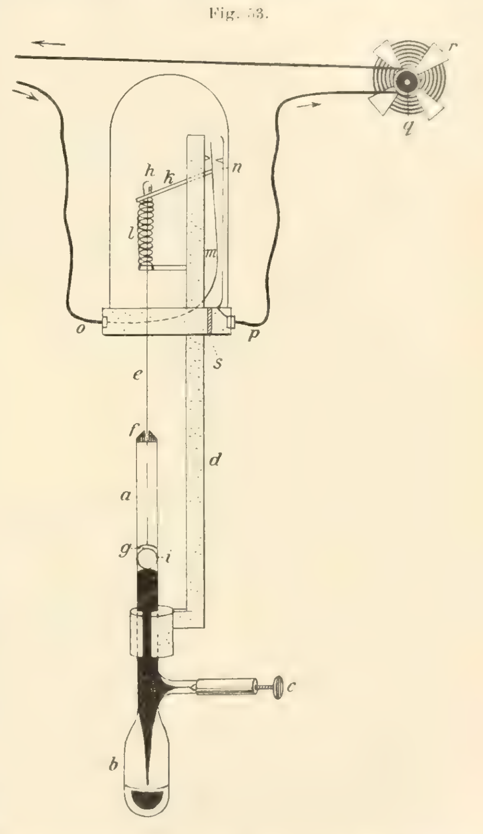
Dies geschieht auf verschiedene Weise, entweder unter Verwendung von Druckluft (*Hardy*) oder durch elastische Büchsen (*Hübner* und *Mayer*, *Turul*), endlich durch eine mit Wasser gefüllte Kupferleitung (*e*) und einen metallringumgebenen Gummischlauch (im Innern von *a*; „Clorius“, zu beziehen von *G. A. Schultze*, Berlin-Charlottenburg, jedoch nur gegen vorherige genaue Angabe der Temperaturgrade usw.). Der letztere Regler ist am besten zu empfehlen, da er bereits für große Säle (z. B. in Kliniken), sowie für kleinere Kammern erprobt ist. Er läßt sich 5 Grade hinauf und hinunter von der Mitteltemperatur ebenfalls verwenden, indem die Einstellung geändert wird. Hauptsache für eine gute und dauernde Funktion ist die erste Installation, welche genau nach den Vorschriften der erzeugenden Firma zu geschehen hat. Die Anstauung von Wasser in der Heizleitung, das Warmwerden der Rückflußleitung infolge mangelhafter Entwässerung (hufeisenförmige Entwässerungsschleifen (*f*) unter dem Niveau des Fußbodens (*g*) sind allen Entwässerungsdosen vorzuziehen), Unreinlichkeiten in den Rohren (von der Montage her zurückbleibende Dichtungsfetzen, Metallsplitter usf.) sind strenge zu vermeiden. Bei Einhaltung aller Vorsichtsmaßregeln kann eine bis auf $\pm\,^1/_2$ Grad genaue Temperaturkon-

stanz selbst in ganz lichten Räumen erreicht werden, welche durch die Glasscheiben eine starke Ausstrahlung erleiden. Nur wo starker Windanfall ist, treten größere Schwankungen ein.

Alles bis jetzt Gesagte bezieht sich jedoch auf Temperaturen, die über der Außentemperatur liegen. Steigt die Außentemperatur über den in der Temperaturkammer zu haltenden Wärmegrad, so müssen Maßregeln bereit sein, um diesen Einfluß zu paralysieren.

Am meisten ist der Einfluß direkter Sonnenstrahlen zu fürchten; gegen diese schützen bis zu einem gewissen Grade äußere Jalousien aus Holzbrettchen, die das Eintreten der direkten Strahlen hindern, ohne dem diffusen Licht ganz den Weg zu versperren. Räume mit höherer Feuchtigkeit leiden viel weniger unter dieser vorübergehenden Bestrahlung als trockene, weil der Wasserdunst als schlechter Wärmeleiter viel Wärme absorbiert, ehe die Temperatur merklich steigt und so auch dem Temperator zur Betätigung der Heizungssperre längere Zeit zur Verfügung steht.

Fig. 53.



Steigt die Außentemperatur, abgesehen von der Bestrahlung, so hoch, daß die gewünschten Innentemperaturen nicht mehr ohne aktive Abkühlung gehalten werden, so dienen Ventilationen, um mit motorischem Betriebe die erhitzte Luft wegzuschaffen und aus einer im Raume unten befindlichen Öffnung (gegebenenfalls genügt das Öffnen der Türe) kältere Luft nachzusaugen.

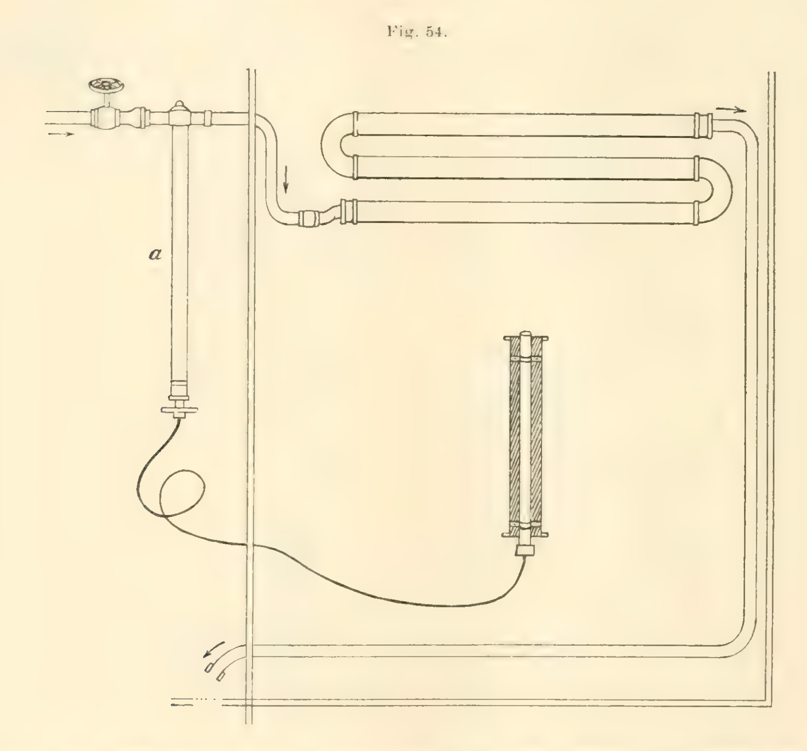
Solche Ventilatoren lassen sich für Wechselstrombetrieb mit direkter Betätigung des elektrischen Stromes durch ein Thermometer automatisch einrichten, während für andere Betriebsarten Relais mit Elementen notwendig sind, die wie bei unseren Zimmerglocken elektromagnetisch eine Ausschaltung bewirken.

Der automatische Ventilator für Wechselstrom (Fig. 53) (fabriziert teilweise nach meinen und meines Laboranten *A. Weisers* Angaben von *H. Dümler*, Wien, IX., Schwarzspanierstraße) besteht aus einer oben offenen Glasröhre *(a)*, welche unten in ein kolbenförmiges Gefäß *(b)* eingeschmolzen ist und deren Quecksilberfüllung durch eine seitlich in einer Kautschuk-

führung wirkende Stellschraube *(c)* beliebig hoch eingestellt werden kann, ferner aus einem diese Röhre tragenden Metallhalter *(d)*, an dem oben durch zwei Führungen *(k)* ein langer Metallstift *(e)* läuft, der dann einen auf die Glasröhre angesteckten Metallschutzdeckel *(f)* durchbohrt und in ein halbkugelförmiges, nach abwärts geöffnetes Schälchen *(g)* ausläuft. Nach oben zu läuft der Stift in einen Knopf *(h)* aus. Zwischen Quecksilber und unterem Stiftende ist zur Isolation ein Glaskügelchen *(i)* eingeschaltet.

Die obere Führung *(k)* des Stiftes ist derart beweglich an dem Metallhalter angebracht, daß sie durch eine Feder *(l)*, welche den Stift zwi-

Fig. 54.



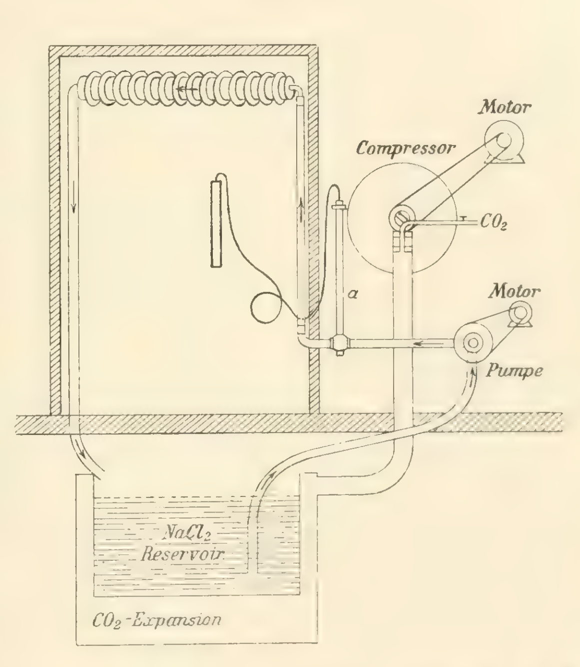
schen den zwei Führungen umwickelt, und ihre eigene Federung (bei *m*) gegen eine Metallspitze *(n)* gedrückt wird. Da nun sowohl die obere Führung als auch diese Spitze mit der Wechselstromleitung (bei *o* und *p*) verbunden sind, so schließt sich ein Kontakt und vermag einen eingeschalteten Motor *(q)* in Bewegung zu setzen, der selbst wieder den in einem Fenster oder sonst in der Mauer eingebauten Ventilator *(r)* treibt. Sinkt die Temperatur unter das gewollte Maß, so vermag das Quecksilber die Glaskugel und den Stift nicht mehr oben zu halten, diese sinken nach abwärts, der obere Knopf des Stiftes drückt die obere Führung nach abwärts, wodurch der Kontakt mit der Metallspitze unterbrochen wird, da

die beiden stromführenden Klemmen (bei *s* isoliert) stromlos werden, und der Ventilator bleibt stehen.

Sobald die gewünschte Temperatur wieder durch die Heizung erreicht wird, schließt sich infolge Ausdehnung des Quecksilbers und der über diesem im Kolben eingeschlossenen Luft, Emporhebung der Kugel und des Stiftes und Wiederherstellung des Kontaktes durch die Ausdehnung der Feder der Strom und die Ventilation entfernt die überhitzte Luft.

Zur Herabsetzung der Temperatur dienen ferner Wasserdurchläufe (Fig. 54, die Pfeile geben die Richtung des Durchlaufes an) mit analogen Temperatoren *(a)*, wie sie für Wärmeleitungen erzeugt werden (*Schultze*, Charlottenburg; bei Bestellung maximaler Wasserleitungsdruck und gewünschte Temperaturgrade angeben), endlich Kältemaschinen, die wir gleich bei Gelegenheit der Kältekammern besprechen werden.

Fig. 55.



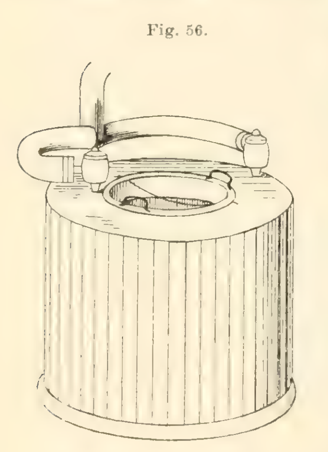
Ebenso wie wir Wärmegrade konstant halten können, die über der Außentemperatur oder doch nur im Hochsommer unter derselben sich bewegen, müssen wir auch trachten, tiefere Temperaturen jederzeit willkürlich herzustellen und konstant zu halten.

In primitiver Weise hat man dies durch Einstellen der Behälter in fließendes Wasser oder Eis zu erreichen gesucht; doch sind die Fehlergrenzen, besonders da die Temperatur des Leitungswassers mit der Jahreszeit zu schwanken pflegt und die Öffnung eines Eiskastens bereits warme Luft in verhältnismäßig großer Menge eindringen läßt, sehr weite.

Erst mittelst der mit motorischer Kraft getriebenen Kältemaschinen gelingt es, ganz entsprechend den Wärmekammern auch Kältekammern (Fig. 55, Schema) herzustellen. Es empfiehlt sich zur Vermeidung von schädlichen Dämpfen, als Kältegenerator nicht eine mit Ammoniak oder schwefliger Säure, sondern mit Kohlensäure betriebene Kältemaschine (Kompressor) zu verwenden (wie solche beispielsweise von *Riedinger* in Augsburg hergestellt werden). Als Kälteausstrahlungsrohre dienen Rippen-

rohre ähnlich wie in den Heizanlagen zur Wärmeausstrahlung. In diesen Rippenrohren und der dazu gehörigen Leitung zirkuliert eine Salzlösung (Pfeile geben in der Figur die Richtung des Durchflusses an), welche fortwährend mittelst einer kleinen Pumpe aus einem Reservoire emporgepumpt wird und wieder nach Durchströmung der Leitungen in dieses zurückfließt. Bei Betätigung des Kältekompressors (was meist mit Elektromotor geschieht) und nachheriger Expansion der komprimierten Kohlensäure in den das Salzreservoir umgebenden Schleifen wird die Salzlösung stark unter Null abgekühlt und nimmt in ihrer Zirkulation daher die in den Räumen vorfindliche Wärme mit. Zur Konstanthaltung niedriger Temperaturen gehört eine sorgfältigere Wärmeisolation als für höhere. Doppelte Wände aus gut isolierendem Material, doppelte Fensterscheiben mit Luftzwischenraum. Vermeidung von Metallteilen, die vom Innern bis nach außen führen (Holzleisten und Filzeinlagen zur Abdichtung), seltenes Betreten (das Öffnen der Türe bedingt in Wärmekammern kaum nachweisliche, in Kältekammern aber leicht empfindliche Schwankung) sind dringend geboten. Als automatische Temperaturregler *(a)* gibt es gegenwärtig bloß eine Type, welche von *Schultze* unter Modifikation des Wärmetemperators „Clorius" für die Biologische Versuchsanstalt in Wien konstruiert wurde und der nach mehreren Versuchen nunmehr allen biologischen Ansprüchen genügen dürfte; jetzt sind die Resultate fast ebenso befriedigend wie bei den Wärmetemperatoren.

Fig. 56.



Da durch fortwährende Kondensation des Wassers an den Kühlrohren sich bei niederen Temperaturen der Räume, selbst über Null, große Feuchtigkeit ansammelt, pflegt leicht eine Vereisung der Kühlrohre einzutreten, die sehr schädlich ist, da sie als Isolationsmantel wirkt und eine weitere Abkühlung des Raumes behindert. Einschmieren der Kühlrohre mit Glyzerin dient zur Vermeidung dieses Übelstandes.

Ist große Feuchtigkeit unerwünscht, so tut man besser daran, bei Anlage der Kühlleitungen einen Vorkühlraum einzuschalten, in dem unter Absatz des Wasserdunstes die Luft vorgekühlt und von da aus erst in die Kühlkammern strömt. Doch ist hiermit notwendigerweise eine eigene Ventilation verbunden, die wieder eine genaue Einhaltung der Temperaturen erschwert.

Für Temperaturen unter Null, in denen Tiere bloß für kurze Zeit belassen werden dürfen, genügen wohl stets an Stelle der Kammern kleinere, gut isolierte Schränke oder Zylinder (Fig. 56), in welche bloß die Versuchstiere mit den notwendigen Temperaturmeßapparaten hineinkommen, während der Beobachter von außen durch einen doppelten Glasdeckel seine Beobachtungen macht.

Die Anwendung des Sekretins zur Gewinnung von Pankreassaft.

Von **Ernest H. Starling**, London.

Um Pankreassaft in größerer Menge zu erhalten, bedient man sich am besten des Sekretins.

Durch *Pawlow* ist gezeigt worden, daß nach Zuführung von verdünnter Säure, wie 0·4%iger HCl, in das Duodenum, sei es direkt oder indirekt durch den Magen, sich ein Reflexfluß von Pankreasaft durch eine permanente oder temporäre Fistel ergießt. *Popielski*[1]) und *Wertheimer*[2]) haben dargelegt, daß dieser Reflexfluß noch nach Durchtrennung aller nach außen führenden Abdominalnerven und selbst nach Zerstörung des Plexus solaris erhalten wird. Der letztgenannte Forscher fand ferner, daß der Reflexfluß nicht nur durch Zuführung von Säure in das Duodenum, sondern auch in den oberen Teil des Dünndarms hervorgerufen wird, und daß sich die Wirkung der Säure um so mehr verringert, je weiter die betreffende Einführungsstelle im Dünndarm vom Pylorus entfernt ist. Wurde die Säure in das Ileum unmittelbar über die Verbindung zwischen Ileum und Colon eingeführt, so zeigte sich keine Wirkung mehr.

Von *Bayliss* und *Starling*[3]) wurde dargetan, daß der erwähnte Säureeffekt nach Zuführung von Säure durch eine Öffnung des Dünndarms erzeugt wird, wenn die Nervenverbindungen des letzteren gänzlich abgetrennt worden sind. Die beiden Autoren schlossen daraus, daß der betreffende Reiz auf die Pankreasdrüse ein chemischer sein muß, der vom Darm auf dem Wege der Blutbahn zur Drüse vermittelt wird. Sie fanden, daß, wenn man die Schleimhaut des Darmes mit 0·4%iger HCl anreibt, die Flüssigkeit abfiltriert und das Filtrat in das Blut einführt, bereits

[1]) *Popielski*, Gazette clinique de Botkin (russ.) (1900).

[2]) *Wertheimer*, Journ. de Physiol. T. **3**. p. 335 (1901).

[3]) *Bayliss* and *Starling*, Proc. Roy. Soc. Vol. **18**. p. 352 (1902) und Journ. of Physiol. Vol. **69**. p. 325 (1902).

nach weniger als einer Minute eine reichliche Menge von Pankreassaft abgegeben wird. Sie folgerten daraus, daß der Pankreassaftfluß normalerweise durch eine chemische Substanz bedingt wird. Diese Substanz, die als Sekretin bezeichnet wurde, wird zu der Klasse der Hormone (chemischen Boten) gerechnet.

Dieses Sekretin wird in den Zellen der Schleimhaut des Duodenums und des Dünndarms durch die Wirkung der Säure auf eine Substanz erzeugt, die als Vorstufe des Sekretins aufgefaßt wird und mit dem Namen Prosekretin belegt wurde. Es wird direkt von den unterliegenden Kapillarien aus den Epithelzellen absorbiert und durch das Blut zu der Pankreasdrüse geführt, wo es auf die Sekretzellen spezifisch erregend wirkt.

Gewinnung des Pankreassaftes. Um Pankreassaft mit Hilfe des Sekretins zu gewinnen, kann man in folgender Weise verfahren:

Am besten bedient man sich zu diesen Versuchen des Hundes; jedoch reagiert auch irgend ein anderes Tier auf die Injektion von Sekretin. Das letztere ist aus dem oberen Teil des Dünndarmes irgend eines Wirbeltieres darstellbar.[1])

Um einen ausgiebigen Saftfluß zu erzielen, füttert man den Hund 24 Stunden vor der Entnahme mit einer reichlichen Menge Fleisch. Vor der Operation wird das Tier mit einer geringen Dosis Morphium betäubt und dann mit etwas flüchtigem Anästhetikum, z. B. mit Äther oder mit einer Alkohol-Chloroform-Äthermischung, narkotisiert. Das Abdomen wird längs der Linea alba geöffnet, dann wird diejenige Stelle des oberen Teiles des Dünndarmes (Jejunum) aufgesucht, wo die Verbindung mit der Bauchwand aufhört. Für die Gewinnung des Sekretins isoliert man sich nun ein Darmstück von etwa 60 *cm* Länge, und zwar so, daß man zunächst an dem entsprechenden Ende und an den Blutgefäßen Ligaturen anlegt und dann das fragliche Stück aus dem Körper entfernt. Steht noch ein anderer Hund zur Verfügung, so kann man vorteilhaft sowohl das Duodenum als auch den oberen Teil des Jejunums ausschneiden. Das Duodenum ist derjenige Teil des Darmes, welcher an Sekretin am reichsten ist. Der größte der Pankreasgänge wird dann bloßgelegt, wo er in den Darm eintritt, und zwar 1 oder 2 *cm* vor dem hinteren Rande des Pankreas, d. h. an dem Punkte, wo dieser Rand das Duodenum verläßt. Nachdem man um den Ductus herum eine Ligatur gelegt hat, wird ersterer durch einen kleinen Schnitt geöffnet, dann wird eine Kanüle eingeführt und festgebunden. Von Wichtigkeit ist, daß die Kanüle nicht mit Gewalt eingeführt wird, da sonst das zarte schleimige Gewebe des Ductus vor die Kanüle gestoßen und die letztere dadurch verstopft werden kann. An der Kanüle befestigt man am besten ein langes Glasröhrchen, so daß der Saft ziemlich weit weg vom Hunde, über den Rand des Tisches in einer

[1]) *Bayliss* and *Starling*, Journ. of Physiol. Vol. **19**. p. 174 (1903).

sicher gestellten Flasche bequem aufgefangen werden kann. Für die Injektion des Sekretins wird eine Kanüle in die Jugularvene eingeführt; das Sekretin läßt man dann aus einer Bürette zufließen.

Häufig empfiehlt es sich, zu gleicher Zeit den arteriellen Blutdruck mit Hilfe einer in die Karotis eingeführten Kanüle, die mit einem Quecksilbermanometer verbunden ist, zu registrieren.

Darstellung des Sekretins.

Der Darm wird im strömenden Wasser rein gewaschen. Dann wird mit einer Schere aufgeschnitten und die Schleimhaut von dem unterliegenden Muskelgewebe mit Hilfe eines Skallpels vollständig abgekratzt. Die Schleimhaut wird in einem Mörser mit einigen Tropfen 0·4%iger Salzsäure und mit etwas Sand tüchtig zerrieben. Hierauf wird noch soviel 0·4%ige Salzsäure hinzugesetzt, bis man eine rahmartige Flüssigkeit erhält. Die Mischung wird in eine Porzellanschale gebracht und über offener Flamme bis zum Kochen erhitzt. Sobald die Mischung heftig siedet, fügt man tropfenweise 10%ige Natronlauge hinzu, bis die Flüssigkeit fast neutral geworden ist. Man muß sorgfältig darauf achten, nicht zu viel Alkali hinzuzusetzen, die Flüssigkeit muß jedenfalls schwach, aber doch deutlich sauer auf Lackmuspapier reagieren. Im allgemeinen erkennt man den richtigen Punkt der Azidität daran, daß sich die koagulierten Proteine zusammenballen und zu Boden der siedenden Flüssigkeit sinken; man muß dann eine klare, überstehende Flüssigkeit beobachten können. Nun wird die Mischung durch ein Faltenfilter filtriert. Falls die annähernde Neutralisation richtig ausgeführt worden ist, filtriert die Flüssigkeit außerordentlich schnell durch. Das Filtrat stellt die zur Injektion geeignete Sekretinlösung dar.

Zum Gebrauche füllt man die Flüssigkeit in eine Bürette und läßt daraus in Zwischenräumen von 10 Minuten je 2—3 cm^3 in die Vene fließen. Bereits während der ersten 60 Sekunden des Zufließens der Sekretinflüssigkeit wird ein lebhafter Saftfluß erzeugt, der 10—15 Minuten andauert. Bei Zuführung der Sekretinflüssigkeit von 10 zu 10 Minuten kann einige Stunden lang ununterbrochen ein Saftfluß erzielt werden; man kann dabei bei einem Hunde von 8—10 *kg* im Verlaufe von 7—8 Stunden bis 200 cm^3 Saft erhalten.

Eigenschaften des Sekretins.

Der Extrakt der Darmschleimhaut enthält nach dem oben angegebenen Darstellungsverfahren außer den auf die Pankreassekretion einwirkenden Substanzen natürlich auch viele andere Beimengungen. Eine sichtbare Wirkung einer solchen Substanz macht sich z. B. bei der Injektion durch plötzliches beträchtliches Absinken des Blutdruckes geltend

eine Erscheinung, welche ihrer Größe und Dauer nach sowohl von dem betreffenden Tiere als auch von der Herkunft des Sekretins abhängig ist. Dieselbe Wirkung auf den Blutdruck wird auch durch Extrakte hervorgerufen, die aus dem unteren Teile des Ileums stammen und die auf die Pankreasdrüse ohne Einfluß sind. Eine gleiche Wirkung verursachen auch andere Extrakte aus verschiedenen tierischen Geweben. Das Sinken des Blutdruckes ist sowohl bei Hunden als auch bei Katzen bemerkbar. Dagegen ist er nicht zu beobachten beim Arbeiten mit Kaninchen und Affen, bei welchen Sekretininjektion sogar eine leichte Blutdruckerhöhung erzeugen kann.

Jedenfalls ist es möglich, den Sekretinextrakt in der Weise zu reinigen, daß die Wirkung auf den Blutdruck vollständig fehlt, während hingegen die Reizwirkung auf die Pankreasdrüse erhalten bleibt. Zweifellos geht daraus hervor, daß der Einfluß auf den Blutdruck nicht von der Substanz, die den sekretomotorischen Reiz auslöst, abhängt. Irgend eine andere Substanz oder auch verschiedene Substanzen müssen für jene Erscheinung verantwortlich gemacht werden. Zu diesen anderen Substanzen können wir wahrscheinlich die kürzlich von *Dale* und *Barger* als Iminazoläthylamin beschriebene Verbindung rechnen. Sicher ist aber dieses Produkt nicht die einzige Substanz, die in dem Schleimhautextrakt vorhanden ist und die die Blutdruckänderungen hervorruft. Das einzige Kriterium für die Gegenwart oder Abwesenheit des Sekretins in einer Lösung ist, vorläufig wenigstens noch, die Wirkung der betreffenden Lösung auf die Pankreasdrüse. Von diesem Standpunkte aus kann man folgende Angaben über die Eigenschaften des Sekretins machen:

Das Sekretin ist beständig in schwachsauren Lösungen, dagegen wird es schnell von alkalischen Lösungen zerstört.

Es wird in Lösung durch Zusatz einiger Tropfen Kaliumpermanganatlösung ebenfalls zersetzt.

Die Zersetzung scheint durch einen Oxydationsprozeß hervorgerufen zu werden.

Fast neutrale Sekretlösungen, wie sie in oben angegebener Weise erhalten werden, verlieren schnell ihre Wirkung, wenn sie im Laboratorium, der Luft ausgesetzt, aufbewahrt werden. Indessen kann man sie einige Zeit lang aufbewahren, ohne daß sie einer Zersetzung anheimfallen, wenn sie aufgekocht sind und unter Abwesenheit von Luft oder unter Wasserstoff aufbewahrt werden.

Sekretin ist schwach diffusibel. Es wird durch Trypsin, aber nicht durch Magensaft, zerstört. Die Zerstörung durch Trypsin ist nicht etwa auf die Alkalinität des betreffenden Mediums zurückzuführen: denn, wenn Sekretin mit Pankreassaft gemischt wird, wird es viel rascher zerstört, falls der Saft durch Zusatz einer geringen Menge Enterokinase, die natürlich nicht seine Reaktion verändert, aktiviert worden ist.

Sekretin wird auch durch Darmsaft oder durch Mazeration von Darmschleimhaut zerstört.

Sekretin ist löslich in Wasser, in verdünnten Salzlösungen, in Säure oder Alkali; auch wird es leicht von 70⁰/₀igem Alkohol gelöst. Unlöslich ist es dagegen in Chloroform, Äther, Aceton und absolutem Alkohol. Es wird durch Quecksilberchlorid in neutraler Lösung und auch von Pikrinsäure gefällt.

Die erwähnten Eigenschaften können, wie im Folgenden gezeigt wird, für die Darstellung des Sekretins in reinerem Zustande, als es durch einfaches Auskochen der Darmschleimhaut gewonnen wird, herangezogen werden.

Methode nach *Stepp.*[1]) Nach *Stepp* gewinnt man eine ziemlich reine Sekretinlösung in folgender Weise:

Die schwach saure, rohe Sekretinlösung wird auf dem Wasserbade zur Trockene verdunstet.

Der dunkelbraune Rückstand wird in einer geringen Menge 70⁰/₀igen Alkohols aufgenommen; dann wird filtriert. Zu dem Filtrate fügt man das Neunfache seines Volumens an absolutem Alkohol. Hierdurch wird ein Niederschlag erzeugt, der neben wenig Sekretin zum größten Teil Natriumchlorid enthält; diese Füllung wird verworfen. In dem klaren Filtrate setzt man das gleiche Volumen Äther hinzu. Man erhält dabei eine zweite weiße Fällung, von der abfiltriert wird und die, nach dem Verdunsten des Äthers, aus einem leichten, weißen Pulver besteht. Dieses Produkt stellt ein kräftig wirkendes Sekretinpräparat dar, das fast oder überhaupt gänzlich frei von Überwirkung auf den Blutdruck ist.

Reinigungsmethode nach *Dale* und *Laidlaw.*[2])

Nach einer kürzlich veröffentlichten, vorläufigen Mitteilung dieser Autoren kann das Sekretin in folgender Weise dargestellt werden:

Von dem oberen Zweidrittel des Dünndarmes von Hund und Katze wird die Schleimhaut abgekratzt. Man wägt und zerreibt dann mit einem Fünftel des Gewichtes an Ätzsublimat, hierauf setzt man für je 1 *g* Schleimhaut 2 *g* Wasser hinzu und bringt die Mischung in ein Gefäß, wo man sie längere Zeit gut aufbewahren kann. Wenn man eine genügende Menge Material gesammelt hat, wird die Mischung aufgekocht. Dann wird durch Papier oder Musselin filtriert. Die Flüssigkeit, die nur geringe Mengen Sekretin enthält, wird verworfen; der Niederschlag wird in einer Presse trocken gepreßt. Der Preßkuchen wird zerbröckelt und in ein angemessenes Volumen einer 2⁰/₀igen Essigsäurelösung, die 1⁰/₀ Quecksilberchlorid enthält, suspendiert (für je 1 *g* der ursprünglichen Schleimhaut rechnet man ungefähr 4 cm^3 Säurelösung). Die Mischung wird aufgekocht. Hierauf wird

[1]) *Stepp,* Journ. of Physiol. Vol. 34. p. 441 (1912).
[2]) *Dale* and *Laidlaw,* Proc. Phys. Soc. Journ. of Physiol. 44 Vol. p. XI (1912).

filtriert. Zu dem Filtrate setzt man 10%ige Natronlauge, bis es fast neutral ist, d. h. bis die hervortretende gelbe Fällung von Quecksilberoxyd beim Schütteln gerade verschwindet. Man erhält dann einen weißen, flockigen Niederschlag, der das Sekretin enthält. Diese Fällung wird auf einem Filter gesammelt, getrocknet und in Wasser suspendiert. Durch die Flüssigkeit wird Schwefelwasserstoff geleitet; die saure Mischung wird nun sorgfältig neutralisiert, erhitzt und frei von Schwefelwasserstoff gekocht. Dann wird vom Quecksilbersulfid abfiltriert. Auf diese Weise erhält man eine höchst wirksame Sekretinlösung.

Als vorteilhafter empfiehlt es sich, den Quecksilberniederschlag nicht in Wasser, sondern in 75%igem Alkohol zu suspendieren und durch diese Flüssigkeit Schwefelwasserstoff zu leiten; man neutralisiert hierauf und filtriert vom Quecksilbersulfid ab. Aus dem klaren Filtrate erhält man schließlich durch Zusatz eines Überschusses von Aceton einen weißen Niederschlag, der das gesamte Sekretin enthält.

Aus der wässerigen Sekretinlösung wird durch Zusatz überschüssiger Pikrinsäure ein amorphes Pikrat gefällt. Löst man dieses in verdünnter Sodalösung, so erhält man eine zur Injektion geeignete Lösung von hoher Sekretinwirkung.

Bedingungen für die Wirksamkeit des Sekretins.

Während man zur Gewinnung von Pankreassaft durch Reizung des Nervus vagus ganz bestimmte Vorsichtsmaßregeln anwenden muß, macht sich die Wirkung des Sekretins selbst unter den entgegengesetzten Bedingungen geltend, wie z. B. unter tiefer Anästhesie und bei einem sehr niedrigen Blutdruck. Die Injektion von Sekretin wird solange eine Sekretion von Pankreassaft verursachen, bis die Drüsenzellen vollständig entleert sind, d. i. bis die Zymogengranulae aus diesen Zellen gänzlich verschwunden sind. Wie zu erraten ist, erhält man einen besonders reichlichen Saftfluß von einem gesunden Hunde mit lebhafter Zirkulation; es ist schon deshalb vorteilhaft, den druckherabsetzenden Effekt einer Sekretinlösung soviel als möglich zu vermindern. Weder Morphin noch Atropin üben irgend eine bemerkenswerte Wirkung auf den Sekretineffekt aus. Dieser Befund steht im Gegensatz zu Beobachtungen *Pawlows* über die Erzeugung der Pankreassaftsekretion auf andere Weise. Es zeigte sich nämlich, daß die genannten Alkaloide den Einfluß des Nervus vagus auf die Pankreasdrüse vermindern oder zerstören und ferner, daß eine sehr kleine Dosis Atropin die Wirkung des Pilokarpins auf die Pankreassekretion gänzlich vernichtet. Aus folgender Tabelle (*De Zilwa*[1]) ist die Zusammensetzung von Sekretinsaft, wie er zu Beginn und am Ende eines Versuches erhalten wird, ersichtlich. Ferner ist aus dieser Zusammenstellung der deutliche Unterschied von diesem Safte und von jenem, der nach Injektion von Pilokarpin gewonnen wird, erkenntlich.

[1] *De Zilwa*, Journ. of Physiol. Vol. **31**. p. 229 (1904).

Alkalität	A	B		C	D	
	—	(a)	(b)	—	(1)	(12)
Anzahl der $cm^3 \frac{n}{1}$ Na OH für 10 cm^3 Saft	12·7	12·4	9	5·5	13·15	14
d. i. Na für 100 cm^3 . .	0·2921	0·2852	0·2587	0·1166	—	—
Gesamtmenge fester Körper in 100 cm^3	1·6 1·56	2·25	1·15	6·38 6·40	1·62	1·04
Gesamteiweiß	0·5	—	—	4·8	0·63	Koagulum unter 55° C = 0·38 Koagulum zwischen 55° und 75° = 0·19 Opazität über 75°
Asche	1·00 0·92	1·00	1·00	1·30	1·00	0·98
Chloride	0·2808 0·2966	—	—	0·2695	—	—
Gesamtstickstoff	—	—	—	0·7350	—	—

A. Sekretinsaft von 3 Hunden. Spez. Gew. 1·014.
B. Sekretinsaft: Probe *a)* gesammelt zu Beginn, *b)* am Ende des Versuches.
C. Pilokarpinsaft.
D. Sekretinsaft, nach und nach je 10 cm^3 gesammelt: (1) die ersten 10 cm^3: (12) die zwölften 10 *cm.*

Nachdem 60 cm^3 gesammelt worden waren, wurden 60 cm^3 3%iges Na_2CO_3 injiziert.
„ 70 cm^3 „ „ „ „ 50 cm^3 3%iges „ „
„ 110 cm^3 „ „ „ „ 30 cm^3 3%iges „ „

Die Alkalität des Pilokarpinsaftes war zuweilen etwas stärker; bei einer Probe entsprach sie $\frac{n}{10}$ Na OH.

Derjenige Saftfluß, der durch fortgesetzte Reizung des Nervus vagus erhalten wird, scheint dem Pilokarpinsaft ähnlich zu sein. Andrerseits ist der Sekretinsaft anscheinend ganz analog dem Safte, den man bei einem Hunde mit einer permanenten Fistel durch Injektion von Säure in das Duodenum oder nach entsprechender Fütterung erhält.

Andere Wirkungen des Sekretins: Nach Injektion von einer rohen Sekretinlösung können außer Pankreassaftsekretion und dem Absinken des Blutdruckes folgende Erscheinungen beobachtet werden: Vermehrung der Gallensekretion; die Menge des Flusses kann verdoppelt oder verdreifacht werden.

Darmsaftsekretion (Delezenne und Frouin);
Speichelsekretion;
Verstärkte Peristaltik.

Von diesen Erscheinungen sind wahrscheinlich nur die beiden ersten, nämlich der Effekt auf die Galle und den Darmsaft, spezifisch und auf

das Sekretin zurückzuführen. Der Speichelfluß wird durch das Zentralnervensystem bewerkstelligt; er wird aufgehoben nach Durchschneidung der Chorda tympani und des Sympathikus. Er kommt wahrscheinlich erst in zweiter Linie infolge des plötzlichen Abfalles des Blutdruckes in Betracht. Die erhöhte peristaltische Erscheinung kann auf irgend ein Extraktionsprodukt zurückgeführt werden, das durch Kochen des Darmgewebes mit Säure erhalten wird.

Prosekretin.

Die beste Methode zur Extraktion des Sekretins aus der Schleimhaut ist die Behandlung der letzteren mit einer verdünnten starken Säure, wie z. B. mit 0·4%iger Salzsäure. Lösungen von Kohlensäure, Milchsäure und Borsäure sind für die Extraktion kaum wirksamer als reines Wasser. Da normalerweise der Reiz für die Sekretion beim Eintritt des stark sauren Chymus in das Duodenum hervorgerufen wird, schlossen *Bayliss* und *Starling*, daß das Sekretin aus einer bestimmten Vorstufe, dem Prosekretin, hervorgeht und daß die Bildung des Sekretins in den Epithelzellen des Darmes wahrscheinlich durch hydrolytische Prozesse stattfindet. Diese Annahme ist indessen nicht mit allen Tatsachen in Vereinbarung zu bringen. Das Sekretin, das physikalisch wirksam ist, wird nicht im Darmlumen produziert; es gelangt vielmehr aus den Zellen direkt in die unterliegenden Blutgefäße. Wir müssen jedenfalls annehmen, daß die Säure, sobald sie in Berührung mit dem freien Rande der Zellen gelangt, entweder von den Zellen absorbiert wird oder in irgend einer Weise die Permeabilität der Zellen verändert. Im ersteren Falle könnte die Vorstufe des Sekretins durch die Säure in den betreffenden Zellen abgespalten werden; im anderen Falle könnte das vorher gebildete Sekretin durch die verbundenen Ränder in die unterliegenden Kapillarien dringen. Wird Sekretin in das Darmlumen eingeführt, so zeigt es keinen Einfluß auf die Pankreassekretion. Entweder wird es nicht absorbiert oder, falls es wirklich zur Absorption gelangen sollte, wird es bei seinem Durchgang durch die Zellen zerstört.

Nach *Delezenne*[1]) findet sich das Sekretin vorgebildet in den Epithelzellen der Schleimhaut. Der Grund, warum es daraus durch Wasser oder durch Salzlösung nicht extrahiert werden kann, wird darauf zurückgeführt, daß es durch irgend eine Fermentwirkung in dem Maße, wie es aus den Zellen extrahiert wird, zerstört wird. Sollte diese Annahme richtig sein, so wäre es schwierig zu verstehen, warum kochendes Wasser, das doch das Ferment zerstören würde, nicht ein ebenso wirksames Extraktionsmittel wie verdünnte Säure darbietet. Andrerseits beweist die Tatsache, daß Sekretin aus der Schleimhaut durch starke Seifenlösungen oder durch

[1]) *Delezenne*, Journ. de Physiol. et de Path. Compt. T. **14**. p. 521, 540 (1912). Vgl. auch den dort angeführten vollständigen Literaturnachweis.

70$^0/_0$igen Alkohol (*Fleig*[1]) extrahiert werden kann, daß keine sehr ausgesprochene chemische Veränderung und wohl sicherlich kein hydrolytischer Vorgang für die Infreiheitsetzung des Sekretins herangezogen werden kann. Viel wahrscheinlicher dürfte es sein, daß Sekretin in den Zellen vorhanden ist, zwar nicht frei, sondern von irgend einem Bestandteil des Protoplasmas adsorbiert (möglicherweise von einer Substanz lipoidartigen Charakters), aus welchem es vielleicht durch verschiedene physiologische Reizungen während des Lebens des Tieres freigemacht wird, z. B. durch Senföl und wie es sicherlich durch Anwendung verschiedener chemischer Extraktionsmethoden nach dem Tode der Zellen geschieht. Zwischen dieser Betrachtungsweise und derjenigen von *Delezenne* besteht in gewisser Beziehung kein sehr großer Unterschied: in beiden Fällen hängt jedenfalls die Darstellung des Sekretins eher von der Art der Extraktion als von der Bildung der Substanz ab.

Es ist jedenfalls von untergeordneter Bedeutung, ob wir von einem Sekretin sprechen, das im adsorbierten und unwirksamen Zustande in der Zelle als Prosekretin vorkommt, oder ob wir nur sagen, daß das Sekretin in der Zelle in irgend einer Weise gebunden ist, so daß es eines spezifischen Reizmittels an der Oberfläche der Zelle oder besonderer Substanzen, die in die Zelle eindringen, bedarf, um in Freiheit gesetzt zu werden und dann in die Blutbahn gelangen zu können.

---

[1]) *Fleig* betrachtet das Sekretin, das nach diesen Methoden (durch Seifenlösungen oder durch Alkohol) extrahiert worden ist, als verschieden von demjenigen, das mit Hilfe von Säure gewonnen wurde. Er nennt dieses Produkt Sapocrinin respektive Äthylocrinin. Journ. de Physiol. et de Path. p. 32 (1904).

Nachweis und Darstellung methylierter Aminosäuren (Betaine) in Tier- und Pflanzengeweben.

Von **Georg Trier**, Zürich.

Von den in der Natur auftretenden, an basischen Stickstoffatomen vollständig methylierten Aminosäuren (Betainen) ist nur der einfachste Repräsentant, das Betain par excellence $C_5H_{11}NO_2$ (Glykokollbetain, N-Trimethylammoniumessigsäure), welches der ganzen Gruppe den Namen gegeben hat, sowohl im Tier- wie im Pflanzenreich aufgefunden worden.

Aus tierischen Geweben sind ferner isoliert worden: das Karnitin (Oxybuttersäurebetain), $C_7H_{15}NO_3$, und das Butyrobetain, $C_7H_{15}NO_2$.

Aus Pflanzenextrakten sind bis jetzt erhalten worden:

das Betain (Glykokollbetain), $C_5H_{11}NO_2$,
das Stachydrin (α-Prolinbetain), $C_7H_{13}NO_2$,
das Hypaphorin (Tryptophanbetain), $C_{14}H_{18}N_2O_2$,
das Trigonellin (Nikotinsäurebetain), $C_7H_7NO_2$,
das Betonizin und Turizin (Oxyprolinbetaine), $C_7H_{13}NO_3$.
Ferner dürfte hierher zu zählen sein das Arecain, $C_7H_{11}NO_2$.

In Pilzen ist außer dem Glykokollbetain (im Mutterkorn, Champignon) aufgefunden worden: das Ergothionin (Thiohistidinbetain), $C_9H_{15}O_2N_3S$, und das Herzynin (Histidinbetain), $C_9H_{15}O_2N_3$.

A. Betaine des Tierkörpers.

Betain, $C_5H_{11}NO_2$, siehe unten.

Karnitin, $C_7H_{15}NO_3$. [1])

Die Synthese des isomeren, inaktiven Isokarnitins (β-Oxy-γ-trimethylaminobuttersäurebetain) ist von *A. Rollet* [2]) und von *R. Engeland* [3]) ausgeführt worden. Die Synthese des inaktiven α-Oxy-γ-trimethylaminobutter-

[1]) Siehe dieses Werk, Bd. **2**. S. 1047. 1068.
[2]) *A. Rollet,* Zeitschr. f. physiol. Chem. **69**. 60 (1910).
[3]) *R. Engeland,* Berichte d. Deutschen chem. Ges. **43**. 2705 (1910).

säurebetains, welches vermutlich die Razemform des Karnitins ist, wurde von *E. Fischer* und *A. Göddertz* [1]) ausgeführt.

Das Sulfat dieser razemischen Verbindung ist äußerst löslich in Wasser. Mit Phosphorwolframsäure gibt die wässerige Lösung auch bei Gegenwart freier Mineralsäure einen farblosen, kristallinischen Niederschlag, der aus heißem Wasser in feinen, meist büschel- oder fächerartig verwachsenen Nädelchen kristallisiert. Das Goldsalz, $C_7 H_{15} O_3 N . H Au Cl_4$, bildet gelbe, häufig lanzettförmig ausgebildete und zu Büscheln vereinigte Nadeln. Es hat keinen scharfen Schmelzpunkt. Im Kapillarrohr fängt es gegen 162° an zu sintern und schmilzt erst zwischen 175—176° (korr.) zu einer klaren, orangeroten Flüssigkeit.

Das Chloroplatinat ist in Wasser äußerst leicht löslich und wird daraus durch Alkohol zunächst als Sirup gefällt. Kristallisiert in dünnen Nadeln. Schmilzt nicht ganz konstant nach vorherigem Sintern gegen 216° unter Zersetzung.

Butyrobetain, $C_7 H_{15} NO_2$.

Eine Verbindung von der angenommenen Zusammensetzung $C_7 H_{17} NO_2$, welche aber nach *Takeda* [2]) mit dem γ-Trimethylaminobuttersäurebetain identisch ist und danach der Formel $C_7 H_{15} NO_2$ entsprechen muß, fand *L. Brieger* [3]) in faulem Pferdefleisch. *Brieger* isolierte diese Verbindung aus dem Quecksilberniederschlag. Aus dem zerlegten Niederschlag wurde durch wiederholtes Behandeln der salzsauren Salze mit absolutem Alkohol das Putreszin entfernt. Die alkoholische Lösung wurde wieder mit alkoholischer Sublimatlösung gefällt und der Niederschlag des öfteren mit nicht zuviel Wasser ausgekocht. Das schwer lösliche Kadaverinquecksilberchlorid kristallisierte bald heraus und in dem Filtrate blieben leicht lösliche Quecksilberverbindungen zurück, welche mittels Schwefelwasserstoff zerlegt wurden. Der Rückstand wurde zum Sirup eingedampft und mit Goldchlorid versetzt. Es fiel das Chloraurat der oben genannten Verbindung aus. Im Filtrate der Goldfällung verblieb die Verbindung $C_5 H_{13} NO_2$, das Mydatoxin.

Aus dem Harn mit Phosphor vergifteter Hunde isolierte *Takeda* (l. c.) das Butyrobetain aus der zweiten Phosphorwolframsäurefällung. („Lysinfraktion", entsprechend dem Verfahren von *Kossel* und *Kutscher*, siehe unten.) Die aus der Basenlösung gewonnenen salzsauren Salze wurden bis zur Kristallisation eingedampft, mit Methylalkohol aufgenommen, filtriert, die eingedunstete Lösung mit Alkohol aufgenommen und mit Sublimat gefällt. Aus der zerlegten Quecksilberfällung wurden die salzsauren Salze zum Sirup eingeengt und mit Alkohol behandelt. Der im Alkohol lösliche Teil wurde in konzentriert-alkoholischer Lösung mit 20%iger alkoholischer Platinlösung ausgefällt, die Platinsalze mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die wiedergewonnenen Chlorhydrate mit 30%iger Goldlösung gefällt.

---

[1]) *E. Fischer* und *A. Göddertz*, Berichte d. Deutschen chem. Ges. **43**. 3272 (1910).

[2]) *K. Takeda*, *Pflügers* Arch. d. Physiologie. **133**. 365 (1910).

[3]) *L. Brieger*, Ptomaine. III. S. 28 (1886).

Das so erhaltene Goldsalz ist jenes des γ-Trimethylbutyrobetains. Das Betain läßt sich durch Methylierung der γ-Aminobuttersäure gewinnen[1], die ihrerseits bei der Fäulnis von Glutaminsäure entsteht.[2])

Das freie Betain bildet aus wässerigem Alkohol mit Äther gefällt schneeweiße Kristallblättchen. Sie enthalten wahrscheinlich 3 Moleküle Kristallwasser, die über Schwefelsäure langsam aber gänzlich entweichen. Das Betain ist in absolutem Alkohol leicht löslich. Bei 130° erweicht es, schrumpft dann allmählich zusammen und schäumt bei ca. 222° auf *(Willstätter)*.

Das salzsaure Salz kristallisiert nach *Brieger* in feinen Nadeln, die in absolutem Alkohol unlöslich sind. Schmelzpunkt 203°. Goldsalz, $C_7H_{15}NO_2 . HCl . AuCl_3$. Dimorph. Nadeln oder Blättchen. In kaltem Wasser schwer, in heißem leicht löslich. Schmelzpunkt 176°. Platinsalz, $(C_7H_{15}NO_2 . HCl)_2 PtCl_4$, hellrote, viereckig oder sechseckig begrenzte, längliche Täfelchen oder flächenreiche Prismen. Kristallwasserfrei. In kaltem Wasser ziemlich leicht, in warmem sehr leicht, in Alkohol auch in der Hitze fast gar nicht löslich.

Platinsalz des Äthylesters, $(C_6H_{15}N . COO . C_2H_5)_2 Pt . Cl_6$.

Aus dem Chlorid durch Erhitzen mit alkoholischer Salzsäure. Wenig löslich in Wasser. Schmilzt unter Aufschäumen bei 222°.

Die Salze werden außer durch Goldchlorid, noch durch Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Kaliumquecksilberjodid (im Überschuß des Fällungsmittels löslich), Jodjodkalium, Kaliumwismutjodid, nicht aber durch Platinchlorid und Pikrinsäure gefällt.

B. Pflanzenbetaine.

(Betain, Trigonellin, Stachydrin, Betonizin und Turizin.)

Zur Isolierung der Pflanzenbetaine sind von *E. Schulze* mehrere Methoden[3]) angegeben worden, die in den letzten Jahren weiter ausgearbeitet, zu einem Verfahren geführt haben, das den wissenschaftlichen Anforderungen am meisten gerecht wird.[4]) Dieses Verfahren beruht im wesentlichen darauf, daß man die in entsprechender Weise hergestellten und gereinigten Extrakte mittelst Phosphorwolframsäure fällt, die Fällung nach dem von *Kossel* und *Kutscher* für die Aufteilung der basischen Spaltungsprodukte der Eiweißkörper ausgearbeiteten Verfahren behandelt, worauf man eventuell vorhandene Betaine neben Cholin und anderen Verbindungen in der sogenannten „Lysinfraktion" erhält.

[1]) *R. Willstätter,* Berichte d. Deutschen chem. Ges. **35**. 617 (1902). — *R. Engeland* und *Fr. Kutscher,* Zeitschr. f. physiol. Chem. **69**. 282 (1910).

[2]) *D. Ackermann,* Zeitschr. f. physiol. Chem. **69**. 273 (1910).

[3]) *E. Schulze,* Landwirtschaftl. Versuchsstationen. **46**. 23 (1896).

[4]) *E. Schulze,* Landwirtschaftl. Versuchsstationen. **59**. 344 (1903); Zeitschr. f. physiol. Chem. **60**. 155 (1909). — *E. Schulze* und *E. Winterstein* in Bd. **2**. S. 522.

Andere Darstellungsverfahren sind von *Brieger*, *Jahns*, *Staněk* u. a. angewandt worden. Nach unseren Erfahrungen ist es je nach Art des Untersuchungsobjektes und der Basen, die man gewinnen will, von Vorteil, die verschiedenen Verfahren in entsprechender Weise miteinander zu kombinieren. Die Wahl des Verfahrens wird vornehmlich davon abhängen, welchen Zweck die betreffende Untersuchung verfolgt.

Darstellung, Trennung und Nachweis der Pflanzenbetaine.

(Betain, Trigonellin, Stachydrin, Betonizin, Turizin.)

Die beiden früher allein bekannten Betaine, Betain (Glykokollbetain) und Trigonellin, lassen sich leicht und sehr vollkommen von dem stets vorhandenen Cholin [1]) trennen, da ihre salzsauren Salze in absolutem Alkohol sehr schwer löslich sind, während sich Cholinchlorid sehr leicht auflöst. [2]) Zur Trennung des Cholins von den Betainen kann man sich auch der Quecksilbersalze bedienen. Sowohl Cholin als auch die Betaine fallen in alkoholischer Lösung, mit alkoholischer Sublimatlösung versetzt, fast quantitativ aus, wenn die Lösung genügend konzentriert ist und die Fällung längere Zeit stehen gelassen wird. Im Filtrat dieser Fällung können sich z. B. Guanidin und Phenyläthylamin vorfinden. Die Quecksilberdoppelverbindung des Cholins ist in Wasser schwerer löslich als jene der Betaine; man kann daher durch wiederholte Umkristallisation eine Trennung herbeiführen. Gut eignet sich die von *Staněk* angegebene Methode der Trennung von Cholin von Betain oder Trigonellin. Sie beruht darauf, daß in alkalischer Lösung nur Cholin von Kaliumperjodid gefällt wird, während die Betaine erst beim Ansäuern der Lösung ausfallen. Diese Methode leistet insbesondere gute Dienste, wenn es sich um die Trennung des Cholins von Betainen wie Stachydrin handelt, dessen salzsaures Salz in Alkohol ziemlich löslich ist. [3]) Stachydrinchlorid läßt sich von Cholinchlorid durch absoluten Alkohol nicht leicht vollkommen abtrennen. Wir verfuhren meist so, daß wir alle drei Trennungsoperationen anwandten.

Das Verfahren gestaltet sich dann in folgender Weise: Die nach Zerlegung der zweiten Phosphorwolframsäurefällung erhaltene Basenlösung, die sogenannte „Lysinfraktion" [4]), wird mit überschüssiger Salzsäure versetzt

[1]) Siehe unsere Bemerkung in Zeitschr. f. physiol. Chem. **73**. 387. Fußnote (1911), sowie *E. Schulze* u. *G. Trier*, ebenda **81**. 53 (1812).

[2]) Siehe Bd. **2**. S. 522.

[3]) Für die Trennung des Cholins von Betain und Trigonellin ist das einfachere Verfahren der Behandlung der salzsauren Salze mit absolutem Alkohol vorzuziehen.

[4]) Das Lysin selbst findet sich in den Extrakten nur selten in nachweisbaren Mengen. Es wird erhalten, indem man die trockenen Chloride der „Lysinfraktion" mit heißem absoluten Alkohol extrahiert; ein verbleibender Rückstand, der sich in Methylalkohol löst, kann Lysin enthalten. Außerdem kann durch den Methylalkohol auch salzsaures Ornithin gelöst werden, doch ist diese Verbindung bis jetzt in Pflanzen nicht nachgewiesen worden. Nach *A. Kiesel* (Zeitschr. f. physiol. Chem. **75**. 176 [1911]) dürfte das Ornithin der Phosphorwolframfällung größtenteils entgehen. Falls das Lysin schon bei der Extraktion der salzsauren Salze mit Äthylalkohol in Lösung gegangen ist, kann

und zur Trockne eingedunstet. Um eine zu starke Bräunung der Salze zu verhindern, ist es zweckmäßig, bei niedriger Temperatur einzudunsten und öfters ein wenig Wasser zuzusetzen, ehe man zum Sirup einengt. Der Sirup wird im Vakuumexsikkator vollkommen getrocknet und sodann mit kaltem absolutem Alkohol extrahiert. Dabei bleiben meist unorganische Salze (K) zurück, ferner aber auch ein Teil des salzsauren Betains oder Trigonellins, falls diese vorhanden sind. Die alkoholische Lösung wird mit einem größeren Überschuß einer gesättigten alkoholischen Sublimatlösung versetzt und zweckmäßig noch festes Sublimat oder eine heißgesättigte alkoholische Sublimatlösung zugefügt. Nach mehrtägigem Stehen wird die Quecksilberfällung abgesaugt und mit Alkohol ausgewaschen.[1]) Die Quecksilberfällung wird dann durch Umkristallisieren aus heißem Wasser in mehrere Fraktionen zerlegt. Jede Fraktion wird dann mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Quecksilbersulfid gut ausgewaschen und die regenerierten salzsauren Salze unter vorsichtiger Entfernung der überschüssigen Salzsäure vollkommen getrocknet. Hierauf wird jede Fraktion mit wenig absolutem Alkohol extrahiert. Die erste Fraktion enthält zumeist Cholin und wird daher entweder vollkommen oder doch zum größten Teil sich lösen. Die aus den in Wasser leichter löslichen Fraktionen der Quecksilberfällung erhaltenen Anteile der salzsauren Salze werden dagegen insbesondere bei Anwesenheit von Betain oder Trigonellin, aber auch bei Gegenwart von Betonizin, Stachydrin einen in Alkohol weniger löslichen Rückstand hinterlassen. Diese Rückstände werden nun nach den unten angegebenen Verfahren auf die Anwesenheit von Betainen geprüft. Die durch Alkohol in Lösung gegangenen Anteile, aus welchen bei weiterer Behandlung kein in absolutem Alkohol schwerer löslicher Anteil mehr abgesondert werden kann, werden vereinigt, der Alkohol abgedunstet, mit Wasser aufgenommen, mit verdünnter Sodalösung behandelt, von einem eventuell auftretenden Niederschlag abfiltriert und mit einer Lösung von Jod in Jodkalium gefällt. Das Reagens wird nach *Staněks*[2]) Vorschrift bereitet aus 153 *g* Jod, 100 *g* Kaliumjodid und 200 *g* Wasser. Von der Fällung, die das Cholin enthält, wird abgesaugt und das Filtrat entweder direkt mit molekularem Kupfer zerlegt, oder es wird erst angesäuert, worauf die Perjodide der Betaine ausfallen, die abgesaugt und ausgewaschen werden. Die Perjodide werden in einer Schale mit Wasser übergossen und so lange mit molekularem Kupfer (dargestellt durch Fällen einer Lösung von Kupfersulfat und Zinksulfat durch Zinkblech) behandelt, bis der Niederschlag eine

es eventuell im Filtrat der Quecksilbersalze durch Zusatz von Baryt abgeschieden werden.

[1]) Das alkoholische Filtrat könnte neben anderen Basen (s. o.) auch den von mir als Spaltungsprodukt von Lezithinen [Eilezithin, Lezithin aus Bohnen-, Erbsen-, Hafersamen, Zeitschr. f. physiol. Chem. **73**. 383 (1911); **76**. 496 (1912); **80**. 409 (1912)] aufgefundenen Aminoäthylalkohol (Kolamin) enthalten. Näheres siehe in meiner Schrift: „Über einfache Pflanzenbasen und ihre Beziehungen zum Aufbau der Eiweißstoffe und Lezithine." Berlin 1912, Gebr. Bornträger.

[2]) *Vl. Staněk,* Zeitschr. f. physiol. Chem. **46**. 280; **47**. 83; **48**. 334; **54**. 354.

lichte Farbe annimmt und der Jodgeruch verschwindet. Dann setzt man Kupferchlorid zu und kocht auf. Es wird vom ausgeschiedenen Kupferjodür und -chlorür abfiltriert und der in Lösung gebliebene Rest des Kupfers durch Schwefelwasserstoff entfernt. Die so erhaltenen salzsauren Salze enthalten nun den in Alkohol löslichen Anteil der Betainfraktion. Sie werden in gleicher Weise wie die oben erhaltenen Anteile auf Betaine geprüft.

Gewisse Pflanzen, wie die Labiaten Stachys silvatica und Betonica officinalis, enthalten Betaine, deren salzsaure Salze in Alkohol ziemlich bis leicht löslich sind und deren Trennung von Cholin etc. durch Alkohol nur sehr unvollkommen gelingt. In Form der getrockneten freien Verbindungen lösen sie sich dagegen in kaltem absolutem Alkohol schwer. Die Isolierung dieser Betaine, des Betonizins und Turizins geschieht daher zweckmäßig in der Weise, daß man die durch Ausfällen mit einem Alkaloidfällungsmittel erhaltenen Basengemische zunächst in neutraler Lösung vollkommen eindunstet und gut trocknet. Hierauf extrahiert man mit absolutem Alkohol, der Betonizin und Turizin zurückläßt, während die übrigen Basen nach den oben angegebenen Verfahren weiter aufgearbeitet werden. Bei Verwendung von Phosphorwolframsäure als Fällungsmittel schafft man zweckmäßig erst die durch Silbernitrat und Silbernitrat und Baryt fällbaren Verbindungen fort, entfernt dann Silber und Baryt durch Salzsäure und Schwefelsäure und bringt dann die neutrale Lösung zur Trockne, um sie mit Alkohol zu extrahieren.

Selbst wenn man nunmehr die in Lösung gegangenen Basen wieder mit Phosphorwolframsäure fällt, so hat man doch an diesem teuren Fällungsmittel durch vorhergehendes Abtrennen der Betonizinbasen gespart.

Die zweite Phosphorwolframsäurefällung kann man überhaupt umgehen, wenn man zur Ausfällung von Arginin, Histidin etc. Silbersulfat an Stelle von Silbernitrat benützt.

Enthalten die Extrakte viel Kalisalze (was besonders bei wässerigen Extrakten oft der Fall sein kann) oder viel Ammoniumverbindungen[1]) (von zersetzten Amiden stammend), so kann[2]) man die Phosphorwolframsäure durch das billigere Wismutkaliumjodid[3]) oder besser das Wismutnatriumjodid ersetzen.

Bei der Untersuchung von grünen Tabakblättern[4]) hatten wir auch mit der Anwesenheit von flüchtigen Alkaloiden zu rechnen. In diesem Falle mußten diese erst durch Wasserdampfdestillation entfernt werden, dann wurde mit Wismutkaliumjodid gefällt und die noch unreinen Basen durch

---

[1]) Handelt es sich bloß um Ammoniumverbindungen, so kann man durch Erwärmen mit verdünnter Sodalösung oder Natronlauge erst das Ammoniak vertreiben. Die Betaine werden bei dieser Behandlung nicht verändert.

[2]) Die Ausbeute an Betainen wird dadurch aber geringer.

[3]) Darstellung des Fällungsmittels siehe *Hoppe-Seyler-Thierfelder*, Handbuch d. Physiol. u. Pathol. Analyse. S. 760.

[4]) *N. T. Deleano* u. *G. Trier*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **79**. 243 (1912). Anal. Acad. Române. II. **34**. Nr. 16 (1912).

Fällung mit Phosphorwolframsäure weiter gereinigt. Auf diesem Wege gelang der Nachweis des Glykokollbetains.

Durch unsere Untersuchungen[1]) ist es bekannt geworden, daß auch mehrere Betaine nebeneinander vorkommen können. Wir fanden neben Stachydrin Trigonellin in Stachys tuberifera[2]), in Betonica officinalis[3]) neben Stachydrin Betonizin und Turizin.

Auch Betain und Trigonellin scheinen nebeneinander vorzukommen. *E. Schulze*[4]) fand nämlich früher im Hafer Trigonellin, ich konnte vor kurzem darin Glykokollbetain nachweisen[5]) und *Staněk*[6]) hatte die Betainmenge im Hafer bestimmt, bemerkte aber in einer späteren Arbeit, daß ihm die Bestimmung der Natur des „Betains" des Hafers nicht gelungen sei und daß vielleicht Trigonellin vorliege.

Was nun die Trennung der einzelnen Betaine voneinander betrifft, so kann dies eine recht schwierige Aufgabe sein. Für den eben genannten Fall, daß die beiden früher allein bekannten Betaine, Glykokollbetain und Trigonellin, nebeneinander sich vorfinden sollten, fehlt es uns heute überhaupt an einer Methode. Die Trennung der wenigen in Labiaten nebeneinander sich vorfindenden Betaine erwies sich als sehr mühevoll. Wie schwierig müßte sich erst die Trennung einer größeren Anzahl der untereinander sehr ähnlichen Betaine gestalten! Es ist nicht unwichtig, auf diesen Umstand hinzuweisen, da von *R. Engeland*[7]) der Versuch gemacht worden ist, an Stelle der Estermethode von *Emil Fischer* zur Trennung der Aminosäuren aus Eiweißhydrolysen deren Umwandlung in Betaine zu benützen.

Hat man nach einem der oben beschriebenen Verfahren Verbindungen erhalten, die man für Betaine hält, so wird man sich über deren Natur durch folgende Vorprüfungen orientieren. Liegen die Verbindungen in freier Form vor, so müssen sie neutral reagieren und beim Erwärmen auf 100° ein Molekül Wasser abgeben.[8]) Sie sind in Wasser sehr leicht, die meisten auch in Alkohol leicht löslich.

Die salzsauren Salze reagieren stark sauer und behalten diese Reaktion auch nach wiederholtem Eindunsten. Die Salzsäure verhält sich so, als wenn sie im freien Zustand vorhanden wäre und läßt sich titrimetrisch bestimmen. Die Salze werden gefällt durch Phosphorwolframsäure und

---

[1]) *E. Schulze* u. *G. Trier*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **67**. S. 48 (1910). Frühere Angaben über gleichzeitiges Vorkommen von verschiedenen Betainen erwiesen sich als irrtümlich.

[2]) *E. Schulze* u. *G. Trier*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **67**. 59 (1910).

[3]) *E. Schulze* u. *G. Trier*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **76**. 258 (1912).

[4]) *E. Schulze*, Landwirtschaftl. Versuchsstat. **46**. 47 (1896).

[5]) Noch nicht veröffentlicht.

[6]) *Staněk*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **48**. 334 (1906); Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. **34**. 297 (1910).

[7]) *R. Engeland*, Ber. d. Deutschen chem. Ges. **42**. 2962 (1909).

[8]) Ergothionin enthält 2 Moleküle Kristallwasser, γ-Butyrobetain wahrscheinlich 3 Moleküle (s. o.).

Phosphormolybdänsäure, Kaliumperjodid, Wismutjodidjodalkali, Kaliumquecksilberjodid (ein Überschuß löst, nach dem Reiben mit einem Glasstab sieht man meist gelbe Kristalle auftreten: *Briegers* Reaktion), durch Goldchlorid (Betonizin und Turizin nur in sehr konzentrierter Lösung), in alkoholischer Lösung durch Platinchlorid.

Tritt beim Erhitzen im Glührohr Pyridingeruch auf, so kann Trigonellin vorliegen. Wird beim Erhitzen der mit Salzsäure befeuchtete Fichtenspan purpurrot gefärbt, so können Betaine der Pyrrolgruppe (Stachydrin, Betonizin, Turizin) anwesend sein. Hat man Ursache, mehrere Betaine nebeneinander zu vermuten, so wird man zunächst die gut getrockneten salzsauren Salze in absolutem Alkohol zu lösen suchen. Am schwersten lösen sich die salzsauren Salze von Betain und Trigonellin, leichter Betonizin und Stachydrin, am leichtesten Turizin.

Betain [1]), $C_5H_{11}NO_2$.

Über den Nachweis im Harn siehe *A. Kohlrausch.* [2])

Darstellung aus Krabbenextrakt [3]), aus der Miesmuschel [4]), aus dem Muskelgewebe des Dornhais [5]), aus Giftdrüsen und frischen Muskeln von Kephalopoden.[6])

Kürzlich wurde Betain auch im Säugetierorganismus aufgefunden. *K. Bebeschin* [7]) fand Betain in Ochsennieren, die nach der Methode von *Gulewitsch* und *Krimberg* auf Extraktivstoffe verarbeitet worden waren.

Aus Mutterkorn erhielt *F. Kraft* [8]) Betain nach der Methode von *Jahns* [9]) (Kaliumwismutjodid). Aus Champignonextrakt gewann *Fr. Kutscher* [10]) das Betain aus dem Filtrat der Pikrinsäurefällung, die das Trimethylhistidin (?) einschloß. Über die Trennung von Betain und Lysin mittelst Pikrinsäure s. *Ackermann* und *Kutscher* (l. c.).

Zum Nachweis des Betains kann man das salzsaure Salz, das Chloraurat, das Platinsalz und das Pikrat benützen.

Als Ergänzung zu den in diesem Werke (l. c.) bereits gemachten Angaben wäre hinzuzufügen:

---

[1]) Siehe auch dieses Werk, Bd. II. S. 522. 1055. 1063. 1064 (1910); Bd. III. S. 866. 872.

[2]) *A. Kohlrausch,* Zentralbl. f. Physiol. Bd. **23**. S. 143 (1909); Zeitschr. f. Biol. Bd. **57**. S. 273 (1911). Siehe auch *Fr. Kutscher,* dieses Werk, Bd. III. S. 866. 872.

[3]) *D. Ackermann* u. *Fr. Kutscher,* Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. **13**. S. 610 (1907); Bd. **14**. S. 688 (1907); *D. Ackermann,* dieses Werk. Bd. II. S. 1055.

[4]) *L. Brieger,* Ptomaine. III. S. 77 (1886); *D. Ackermann* l. c.

[5]) *A. Suwa, Pflügers* Archiv f. d. ges. Physiol. Bd. **128**. S. 421 (1909).

[6]) *M. Henze,* Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. **70**. S. 253 (1910).

[7]) *K. Bebeschin,* Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. **72**. S. 380 (1911).

[8]) *F. Kraft,* Arch. d. Pharmaz. **244**. 336 (1906).

[9]) *Jahns,* Arch. d. Pharmaz. **235**. 152 (1897).

[10]) *Fr. Kutscher,* Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel, **21**. 535 (1911).

Goldsalze von gleicher Beschaffenheit und normalem[1]) Goldgehalt erhält man am besten, wenn man die Lösung des salzsauren Salzes bei Gegenwart von etwas Salzsäure mit starker Goldchloridlösung ausfällt. Der im ersten Augenblick amorphe Niederschlag verwandelt sich schnell in stark glänzende, quadratisch begrenzte Blättchen, die abgesaugt, mit verdünnter Salzsäure ausgewaschen und einen Tag über Schwefelsäure getrocknet werden.

Auch das Platinsalz ist in verschiedenen Formen beschrieben worden.[2]) Eine von mir mehrfach beobachtete Umwandlung der wasserfreien in die kristallwasserreichste Form scheint für das Betain charakteristisch zu sein. Man fällt das in warmem 95%igem Alkohol gelöste salzsaure Betain mit alkoholischer Platinchloridlösung. Der Niederschlag wird aus Wasser umkristallisiert. Ich erhielt nun in mehreren Fällen erst rote wasserfreie Nadeln, die nach kurzer oder längerer Zeit sich in die von *Willstätter* beschriebenen rhombenförmigen Täfelchen umwandelten. Die letzteren enthalten 4 Moleküle Kristallwasser, die schon an der Luft nach und nach abgegeben werden; die Kristalle verwittern. Für 4 Moleküle Wasser berechnet sich 10·07% Gewichtsverlust. Das Pikrat des Betains schmilzt bei 180—182°.

Trigonellin[3]), $C_7H_7NO_2$.

Für die Gewinnung aus Kaffee[4]) werden die rohen Bohnen erst mittelst Äther entfettet, dann das grobe Pulver längere Zeit mit Schwefelsäure digeriert und das Kaffein durch Chloroform extrahiert. Die Ausbeute betrug (nach dem Kaliumwismutjodidverfahren) $10^1/_2$ *g* Trigonellin aus $4^1/_2$ *kg* arabischem Kaffee. Wiedergewinnung aus dem Harn.[5]) Nach Fütterung mit Nicotinsäure.[6])

Die freie Verbindung kristallisiert mit 1 Molekül Wasser. Farblose Prismen. Sehr leicht löslich in Wasser und warmem Alkohol. Beim Erhitzen schmilzt es bei 130° im Kristallwasser. Wasserfrei schmilzt es gegen 220° unter Zersetzung und vorheriger Bräunung.

Das salzsaure Salz, $C_7H_7NO_2 . HCl$, kristallisiert in flachen, stark glänzenden, rechtwinklig begrenzten Tafeln, die in Wasser sehr leicht, in kaltem absoluten Alkohol sehr schwer (1:344) löslich sind. Schmilzt unter Zersetzung bei 260°.

Die Salze des Trigonellins werden außer von den oben genannten Basenfällungsmitteln auch durch Zusatz von Gerbsäure gefällt. Die Fällung

[1]) Über abnormale Chloraurate des Betains siehe *E. Fischer*, Berichte d. Deutschen chem. Ges. 35. 1593 (1902); *R. Willstätter*, Ber. d. Deutschen chem. Ges. 35. 2706 (1902).

[2]) *O. Liebreich*, Ber. d. Deutschen chem. Ges. 3. 162 (1870); *E. Jahns*, Ber. d. Deutschen chem. Ges. **26**. 1495 (1893); *R. Willstätter*, Ber. d. Deutschen chem. Ges. **35**. 598 (1902); *Beilsteins* Handbuch (III. Aufl.). I. 1187.

[3]) Siehe auch dieses Werk, Bd. III. S. 911.

[4]) *O. Görte*, Dissertation Erlangen 1902; *K. Polstorff* u. *O. Görte*, *Wallach*-Festschrift. 1909. S. 569.

[5]) *A. Kohlrausch*, Zentralbl. f. Physiol. **23**. 143 (1909); siehe auch Bd. III. S. 866.

[6]) *D. Ackermann*, Zeitschr. f. Biologie. **59**. 17 (1912).

ist indessen nur gering und löst sich leicht im Überschuß des Fällungsmittels.

Zum Nachweis des Trigonellins eignen sich das charakteristische Aussehen des Chlorhydrats, dessen Schwerlöslichkeit in Alkohol, der Geruch nach Pyridin beim Erhitzen, besonders aber die Chloraurate.

Bei der Fällung des salzsauren Salzes mit Goldlösung scheint zunächst ein wasserhaltiges Aurat zu entstehen, das keinen scharfen Schmelzpunkt und keine konstante Zusammensetzung zeigt. Aus verdünnter Salzsäure mit überschüssiger Goldlösung umkristallisiert, erhält man das normale Chloraurat $C_7H_7NO_2 . HCl . AuCl_3$. In kaltem Wasser schwer lösliche Blättchen oder flache Prismen, die bei 197—198° ohne Zersetzung schmelzen. Kristallisiert man die Fällung aber nur aus Wasser um, so erhält man ein basisches Chloraurat, das nach *Jahns*)[1] der Formel $(C_7H_7NO_2)_4$ $3HCl . 3AuCl_3$ entspricht. Ein solches Salz enthält 37·7% Au. Es wurde öfters ein etwas höherer Goldgehalt ermittelt. Dieses Salz kristallisiert in feinen Nadeln, die sich in kaltem Wasser schwer lösen und bei 186° ohne Zersetzung schmelzen.

Chloroplatinate, $(C_7H_7NO_2 . HCl)_2PtCl_4$. Es sind Platinsalze mit 4 Molekülen Kristallwasser [2]), mit einem Molekül Kristallwasser [3]) und ohne Wasser [4]) beschrieben worden. Die Platinate lösen sich leicht in Wasser, sind aber in Alkohol kaum löslich.

Das Pikrat [5]), $C_7H_7NO_2 . C_6H_3N_3O_7$, bildet glänzende Prismen, die in Wasser leicht, in absolutem Alkohol schwer, in Methylalkohol leicht und in Äther fast unlöslich sind. Schmelzpunkt 198—200°.

Stachydrin [6]), $C_7H_{13}NO_2$.

Die freie Base ist in Wasser und Alkohol ungemein leicht löslich. Farblose, durchsichtige Kristalle mit einem Molekül Kristallwasser. Schmeckt unangenehm süßlich. Schmilzt bei 235° unter Umlagerung in den isomeren Hygrinsäuremethylester. [7]) Physiologisch unwirksam. Wiedergewinnung aus Harn. [8])

Das salzsaure Salz, $C_7H_{13}NO_2 . HCl$, kristallisiert in großen, durchsichtigen, wasserfreien Prismen, die sich in Wasser sehr leicht und auch in kaltem absoluten Alkohol lösen (1 : 12·8). Schmilzt unter Zersetzung bei 235°.

---

[1]) *E. Jahns*, Ber. d. Deutschen chem. Ges. **18**. 2518 (1885).

[2]) *E. Schulze* u. *S. Frankfurt*, Ber. d. Deutschen chem. Ges. **27**. 769 (1894).

[3]) *A. Hantzsch*, Ber. d. Deutschen chem. Ges. **19**. 31 (1886). Solche Salze erhielt ich auch aus pflanzlichem Material.

[4]) *E. Jahns* (l. c.); *A. Hantzsch* (l. c.).

[5]) *K. Yoshimura* u. *G. Trier*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **77**. 296 (1912).

[6]) *A. v. Planta* u. *E. Schulze*, Ber. d. Deutschen chem. Ges. **26**. 939 (1893); Arch. d. Pharm. **231**. 305 (1893); Landwirtschaftl. Versuchsstat. **40**. 280 (1893).

[7]) *G. Trier*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **67**. 324 (1910).

[8]) *E. Schulze* u. *G. Trier*, Zeitschr. f. physiol. Chem., **67**. 80 (1910).

Im Kraute von Galeopsis grandiflora wie in den Blättern von Citrus aurantium fanden wir ein optisch aktives Stachydrin. dessen salzsaures Salz in etwa 5%iger Lösung für $\alpha_D = \quad 26{\cdot}5^0$ zeigte.

Zum Nachweis des Stachydrin eignet sich neben der Fichtenspanreaktion (Pyrrolreaktion) besonders das Chloraurat $C_7H_{13}NO_2 . HCl AuCl_3$.

Es bildet vierseitige Blättchen von rhombischem Habitus. (Eine ähnliche Form zeigt auch das normale Trigonellinaurat. doch lassen sich die Verbindungen durch den Schmelzpunkt leicht unterscheiden.) Es ist in kaltem Wasser sehr schwer, auch in heißem Wasser nicht ganz leicht löslich. Schmilzt um 225° unter Zersetzung.

Platindoppelsalz. $(C_7H_{13}NO_2 . HCl)_2 Pt . Cl_4$.

Durch Fällen der alkoholischen Lösung mit alkoholischer Platinchloridlösung. Sehr leicht löslich in Wasser und verdünntem Alkohol. schwer löslich in 80%igem Alkohol, unlöslich in absolutem. Kristallisiert aus starkem Alkohol in Nadeln. Aus Wasser in großen orangeroten rhombischen Kristallen mit 2 Molekülen Kristallwasser oder in unscheinbaren Formen mit 4 Molekülen Wasser.

Mit Quecksilberchlorid entsteht erst eine ölige, in Wasser leicht lösliche Fällung, bei weiterem Zusatz eine kristallinische Fällung. In Wasser ziemlich löslich, schwer löslich in Alkohol. Das freie Stachydrin wird nicht gefällt.

Pikrat. $C_7H_{13}NO_2 . C_6H_3N_3O_7$. Nadeln. in Wasser ziemlich löslich. Schmelzpunkt 195°.

Chloraurat des Methylesters[1]. $C_6H_{12}N . COO . CH_3 HCl . AuCl_3$. In Wasser schwer löslich. Schmelzpunkt 85°.

Chloraurat des Äthylesters, $C_6H_{12}N . COO . C_2H_5 HCl . AuCl_3$. In Wasser schwer löslich. Schmelzpunkt 59—60°, zersetzt sich bei 241—244°.

Jodwasserstoffsaures Salz des Äthylesters. Schmelzpunkt 88 bis 89°.

Pikrat des Äthylesters, Nadeln. Schmelzpunkt 94—96°.

Betonizin[2, 3], $C_7H_{13}NO_3$.

Die freie Base scheidet sich aus verdünntem Alkohol in gut ausgebildeten Kristallen aus. In Wasser sehr leicht löslich. Die wasserfreie Verbindung ist in kaltem absoluten Alkohol schwer löslich. $[\alpha]_D^{15} = \quad 36{\cdot}60^0$. Schmelzpunkt 243—244°.

Das salzsaure Salz. $C_7H_{13}NO_3 . HCl$. kristallisiert aus heißem Alkohol in prismatischen Nadeln. Leicht löslich in Wasser und heißem Alkohol. ziemlich schwer in kaltem Alkohol. Das salzsaure Salz dreht ebenfalls links. $[\alpha]_D^{15} = \quad 24{\cdot}79^0$.

Chloraurat. $C_7H_{13}NO_3 . HCl . AuCl_3$. Schmelzpunkt 231°.

---

[1]) *E. Jahns,* Ber. d. Deutschen chem. Ges. **29**. 2065 (1896).

[2]) *E. Schulze* u. *G. Trier,* Zeitschr. f. physiol. Chem. **76**. 258 (1912); **79**. 235 (1912).

[3]) Nach unveröffentlichten Versuchen von Prof. *A. Küng.*

Nur sehr konzentrierte Lösungen werden durch Goldchlorid gefällt. Das Betonizin zeigt die Reaktionen der Betaine. Es gibt wie das Stachydrin sehr intensive Pyrrolreaktion.

Turizin [1]), $C_7H_{13}NO_3$.

Das Turizin begleitet das Betonizin. Die freie Base und das salzsaure Salz sind rechtsdrehend. Die freie Base ist in absolutem Alkohol sehr schwer löslich, dagegen löst sich das salzsaure Salz sehr leicht in Alkohol. Schmelzpunkt 249°.

	Betain	Trigonellin	Stachydrin	Betonizin und Turizin
Chloraurat: Au =	43·14%	41·33% u. 37·72	40·82	39·53
Platinsalz: Pt =	30·28	28·44	27·97	26·78

Zu den Pflanzenbetainen dürfte auch das Arecain, $C_7H_{11}NO_2$, zu zählen sein, das von *Jahns* [2]) in den Arecanüssen in kleiner Menge aufgefunden wurde.

Die freie Verbindung reagiert neutral, kristallisiert mit einem Molekül Kristallwasser. Bildet farblose luftbeständige Kristalle, die in Wasser und verdünntem Weingeist leicht löslich, in absolutem Alkohol in der Kälte beinahe unlöslich sind. Schmilzt unter Aufschäumen bei 213—214°. Physiologisch unwirksam. Verhält sich gegen Fällungsmittel wie ein Betain.

Salzsaures Salz, $C_7H_{11}NO_2 . HCl$.
Platinsalz, $(C_7H_{11}NO_2 . HCl)_2 . PtCl_4$. Enthält kein Kristallwasser. Schmilzt bei 213—214° unter Aufschäumen.
Chloraurat, $C_7H_{11}NO_2 . HCl . AuCl_3$.
Prismen. Schmelzpunkt 186—187°.

Hypaphorin [3]), $C_{14}H_{18}N_2O_2$.

Hypaphorin, das Betain des Tryptophans, findet sich zu 3% in den Samen von Erythrina Hypaphorus *Boerl.* Es kann in Form des Nitrats leicht isoliert werden. Die freie Base ist in Wasser sehr leicht löslich. Es schmilzt bei 255° unter Zersetzung. $\alpha_D = +91$—93°. Gibt beim Erhitzen indolartig riechende Dämpfe. Durch Erhitzen mit wässeriger Kalilauge wird es unter Bildung von Trimethylamin und Indol zersetzt. Es reduziert Goldchlorid, Kaliumpermanganat und Eisensalze; mit Glyoxylsäure und Schwefelsäure gibt es die Reaktion von *Adamkiewicz* (*Hopkins* und *Cole*). Physiologisch unwirksam.

[1]) Nach unveröffentlichten Versuchen von Prof. *A. Küng.*

[2]) *E. Jahns,* Arch. d. Pharm. **229**. 669 (1891). Das Arekain ist vielleicht ein N-Methyltetrahydronicotinsäurebetain; siehe meine Inaugural-Dissertation. Zürich 1910.

[3]) *M. Greshoff,* Mededeelingen uit's Lands Plantentuin. 7. 29 (1890); 25. 54 (1898). *P. v. Romburgh,* Koninkl. Akad. van Wetensch. Amsterdam. Bd. **19**. S. 1250 (1911). *P. v. Romburgh* u. *G. Barger,* Transact. of the Chem. Soc. **99**. 2068 (1911).

Salzsaures Salz. $C_{14}H_{18}O_2N_2 . HCl$.

Nitrat. $C_{14}H_{18}O_2N_2 . HNO_3$. Schwer löslich in Wasser. Schmelzpunkt 215—220°.

Durch Methylierung von Tryptophan mit Jodmethyl und Alkali in methylalkoholischer Lösung bildet sich der Methylester des Hypaphorinjodids $C_{15}H_{21}O_2N_2 . J$. Schmelzpunkt 197°. 100 Teile Wasser lösen bei 18° 0·501 *g* dieser Verbindung. Mit wässeriger Natronlauge geht er in das Hypaphorin über.

Nach *Marino-Zucco* [1]) sollen die Blüten von Chrysanthemum cinerarifolium Bocc. (Dalmatinisches Insektenpulver) eine betainartige Base von der Formel $C_{14}H_{28}N_2O_3$ enthalten, das Chrysanthemin. Wir fanden im dalmatinischen Insektenpulver an Stelle dieser Base ein Gemisch von Cholin und Stachydrin. [2]) Es war vorauszusehen, daß die Angaben von *Marino-Zucco* über die Eigenschaften des Chrisanthemins nicht vollkommen richtig sein konnten, da man aus der Darstellung und Beschreibung des Chrysanthemins ersehen kann, daß die Präparate von dem stets vorhandenen Cholin nicht befreit worden waren.

Als Begleiter des Glykokollbetains fanden wir in jungen Pflanzen von Vicia sativa Verbindungen, die dem Betonizin und Turizin sehr ähnlich sich erwiesen. Im Gegensatz zu den bisher von uns erhaltenen Betainen vermochten sie aber Silber- und Kupferoxyd aufzulösen. Ihre Betainnatur erscheint vorläufig fraglich. [3])

Ergothionin [4]), $C_9H_{15}O_2N_3S$.

Nach *Tanret* [4]) wird Mutterkorn mit 90%igem Alkohol extrahiert, der Extrakt eingeengt, von Harzen und Schmieren durch Filtration befreit, mit 20%iger Schwefelsäure versetzt, um Farbstoffe und Ergotinin zu entfernen. Die Schwefelsäure wird dann mittels Baryt ausgefällt, die Lösung durch Versetzen mit Bleisubazetat gereinigt, filtriert, das gelöste Blei durch Schwefelsäure entfernt; sodann wird alkalisch gemacht, mittelst Chloroform erschöpfend behandelt, um noch Alkaloide auszuziehen, hierauf mit Essigsäure angesäuert und nun mit einer warmen 8%igen Sublimatlösung ausgefällt. Die ausgewaschene Fällung wird mit Schwefelwasserstoff versetzt, das Filtrat vom Schwefelquecksilber zum Sirup eingeengt. Das so erhaltene salzsaure Salz wird mit Alkohol gewaschen und aus Wasser umkristallisiert. Nach diesem Verfahren erhält man aus 1 *kg* Mutterkorn 1 *g* Ergothioninchlorhydrat.

Zur Darstellung der freien Base wird das salzsaure Salz bei gelinder Temperatur in 80%iger Schwefelsäure aufgenommen, die Salzsäure durch

[1]) *Marino-Zucco*, Atti della Reale Accad. dei Lincei. (4.) **5**. I. S. 527; **6**. I. 571; **7**. I. 121; (5.) **4**. I. 247; Gazzetta chimica italiana. **19**. 209; **21**. 516; 25. I. 257.

[2]) *K. Yoshimura* u. *G. Trier*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **77**. 290 (1912).

[3]) *E. Schulze* u. *G. Trier*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **79**. 235 (1912).

[4]) *Tanret*, Comptes rendus de l'Acad. des sciences. Bd. **149**. S. 222 (1909); Journ. Pharm. et chim. (6.) **30**. S. 145 (1909); Annal. Chim. et Phys. (8.) **18**. 114 (1909).

wiederholtes Behandeln mit Äther entfernt, dann die verdünnte Lösung mit Bariumkarbonat gefällt, filtriert, unter vermindertem Druck eingeengt und aus heißem 60%igem Alkohol umkristallisiert. Oder man löst das salzsaure Ergothionin in wenig heißem Wasser und fügt Kalziumkarbonat in geringem Überschuß hinzu, kocht, filtriert. Beim Abkühlen scheidet sich das Ergothionin aus. Beim Einengen erhält man nach Zusatz von 95%igem Alkohol weitere Mengen, die man aus 60%igem Alkohol umkristallisiert.

Das Ergothionin kristallisiert aus Wasser in farblosen Lamellen mit 2 Molekülen Wasser, die über Schwefelsäure abgegeben und an der Luft wieder aufgenommen werden. Kristallsystem nach *M. Wyrouboff* monoklin. Sehr leicht löslich in heißem Wasser, in 8·6 Teilen Wasser von 20°; in 30 Teilen 60%igem Alkohol in der Kälte, in 6—7 Teilen beim Kochen; in 45 Teilen 80%igem, 330 Teilen 90%igem und 1000 Teilen 95%igem kochenden Alkohol. Wenig löslich in heißem Methylalkohol und Azeton; unlöslich in Äther, Chloroform und Benzin.

$$\alpha_D = +110^\circ.$$

Nicht flüchtig. Schmilzt im *Maquenne*schen Block unter Zersetzung gegen 290° innerhalb 10 Sekunden. Im frischen Zustand geruchlos; beim Aufbewahren nimmt es einen unangenehmen Geruch an.

Schwache Base, die auf Lackmus nicht reagiert. In den gut kristallisierenden Salzen mit Mineralsäuren lassen sich diese mit Methylorange oder Lackmus so titrieren, als ob sie in freier Form vorliegen würden.

Die Salze werden durch Kaliumquecksilberjodid, Perjodid, Quecksilberchlorid, nicht aber durch Pikrinsäure und Gerbsäure gefällt. Die Lösungen werden durch Erwärmen mit Alkali und Chloroform grün gefärbt, beim Neutralisieren blau. Mit Alkali geschmolzen, wird nach Zugabe von Säure Schwefelwasserstoff frei. Dagegen wird beim Kochen mit starker Kalilauge der Schwefel nicht entfernt.[1]) Die Verwandtschaft mit dem Histidin zeigt sich daran, daß das Ergothionin mit p-Diazobenzolsulfosäure eine intensive Rotfärbung gibt.[1])

Gleich anderen Betainen ist es physiologisch unwirksam. Mit 50%iger Kalilauge entsteht neben Trimethylamin eine ungesättigte schwefelhaltige Säure, welche beim Behandeln mit verdünnter Salpetersäure in β-Glyoxalinakrylsäure übergeht *(Barger* und *Ewins)*.

Ergothionin ist eine einsäurige Base; durch den Eintritt des Schwefels in den Glyoxalinring werden die basischen Eigenschaften desselben vernichtet.[1])

Salze: Salzsaures Salz, $C_9H_{15}O_2N_3S.HCl.2H_2O$.

Rhombische Kristalle, die bei 105° das Kristallwasser verlieren. Schmilzt im *Maquenne*schen Block bei 250°. Sehr leicht löslich in kaltem Wasser und in Methylalkohol, leicht löslich in verdüntem Alkohol, schwer in starkem Alkohol. $\alpha_D = +88·5°$. Mit überschüssigem Silbernitrat entsteht eine Doppelverbindung $(AgCl)_2[(C_9H_{15}O_2N_3S)_2.Ag_2O]$.

Sulfat, $(C_9H_{15}O_2N_3S)_2H_2SO_4.2H_2O$, löst sich in 7 Teilen Wasser von 10°. Schmilzt unter Zersetzung gegen 265°. $\alpha_D = +87·4°$.

[1]) *G. Barger* und *A. J. Ewins*, Transactions chem. Soc. **99**. 2336 (1911).

Phosphat, $C_9H_{15}O_2N_3S \cdot H_3PO_4$. Wasserfrei. Löslich in 20 Teilen Wasser von 19°. $\alpha_D = +83 \cdot 8°$.

Quecksilberdoppelsalz, $C_9H_{15}O_2N_3S \cdot HCl \cdot HgCl_2$.

In 180 Teilen kalten Wassers löslich; in kochendem Wasser ziemlich löslich. Bei Gegenwart von überschüssigem Sublimat in Wasser kaum löslich.

Mit überschüssiger Platinlösung entsteht ein orangerotes, nicht kristallisierendes, in Wasser ziemlich lösliches Salz. Goldlösung gibt eine blutrote Färbung.

Über Jodide siehe *Tanret* (l. c.) und *Barger* und *Ewins* (l. c.).

Mit einer Lösung von 9 Molekülen Eisenchlorid gekocht, geht das Ergothionin in β-Glyoxalin-4-propiobetain (Histidinbetain) über. Dieses Histidinbetain kann isoliert werden durch Entfernung des Eisens mittelst Sodalösung, Ansäuern mit Schwefelsäure und Ausfällen mit Phosphorwolframsäure. Aus der Basenlösung wurde mittelst heißer wässeriger Pikrinsäurelösung ein Dipikrat $C_9H_{15}O_2N_3 \cdot (C_6H_3O_7N_3)_2$ erhalten, welches in dunkelgelben Prismen kristallisierte. Wenig löslich in kaltem, leichter in heißem Wasser. Das Pikrolonat bildet lange, dünne, orangegelbe Nadeln, die bei 229—230° schmelzen. Das Golddoppelsalz bildet aus verdünnter Salzsäure große, breite, dunkelorangegelbe Prismen *(Barger* und *Ewins).*

Histidinbetain (Herzynin)[1] aus Pilzen, $C_9H_{15}O_2N_3$.

Eine in Form des Goldsalzes analysierte Verbindung, welche sich als Histidinbetain erwies und als Herzynin bezeichnet wurde, fand *Fr. Kutscher*[1]) in einem Handelspräparat der wasserlöslichen Extraktstoffe aus Champignon. Die gleiche Verbindung fand *C. Reuter*[2]) im alkoholischen Extrakt von Boletus edulis, und zwar sowohl in der sogenannten „Argininfraktion", wie in der „Lysinfraktion". *Kutscher* gewann die Base aus der „Lysinfraktion", über das Pikrat. Nach einer freundlichen Privatmitteilung von Herrn Dr. *C. Reuter* erwies sich die von ihm gefundene Verbindung mit dem von *Barger* und *Ewins* aus dem Ergothionin gewonnenen Histidinbetain identisch.

Das Chlorid ist in Wasser und Alkohol löslich.

Golddoppelsalz, $C_9H_{15}O_2N_3 \cdot 2\,HAuCl_4$. Schmelzpunkt 183°. In Wasser fast unlöslich. Aus heißer verdünnter Salzsäure in langen orangegelben Spießen.

Monopikrat, feine, weiche, gelbe Nädelchen. Schmelzpunkt 201°.

Dipikrat, längliche Platten oder flache Prismen. Schmelzpunkt 212° unter vorheriger Bräunung.

Nitrat, wavellitartige Gebilde oder dicke, glashelle Krystalle *(C. Reuter).*[3])

[1]) *Fr. Kutscher,* Zentralbl. f. Physiol. **24**. 775 (1910); Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. **21**. 535 (1910). — *R. Engeland* u. *Fr. Kutscher,* Zentralbl. f. Physiol. **26**. 569 (1912).

[2]) *C. Reuter,* Zeitschr. f. physiol. Chem. **78**. 167 (1912).

[3]) *E. Winterstein* u. *C. Reuter,* Zentralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenkunde. II. **34**. 566 (1912).

Darstellung einiger biochemisch wichtiger Substanzen aus Melasse und Melasseschlempe.

Von **Felix Ehrlich,** Breslau.

Als Ausgangsmaterial für die Gewinnung einzelner organischer Substanzen kommen außer dem Rübensaft selbst besonders folgende Abfälle der Rübenzuckerindustrie in Betracht:

1. Die Melasse der Rohzuckerfabriken.

Die Melasse ist das Abfallprodukt der Rübenzuckerfabrikation, aus dem unter Einhaltung aller für die Kristallisation günstigen Bedingungen durch Eindicken und Stehenlassen kein Zucker mehr gewonnen werden kann. Sie stellt normal einen zähflüssigen, braun oder schwarzbraun gefärbten, eigentümlich basisch riechenden Sirup dar, der gegen Lackmus und Phenolphtalein stark alkalisch reagiert. Ihr spezifisches Gewicht ist gewöhnlich 1·42 entsprechend 42° Baumé resp. 80° Brix oder Balling. Die Zusammensetzung der Melasse ist je nach Beschaffenheit der rohen Rübensäfte und je nach der Arbeitsweise der betreffenden Fabriken eine etwas veränderte. Sie enthält durchschnittlich etwa 20% Wasser und 80% Trockensubstanz. Der Hauptbestandteil der Melasse ist der Rohrzucker, der 48—50% ihres Gewichtes bildet und aus der Melasse nur durch Osmose oder durch Fällung mittelst Strontian, Kalk, Bleioxyd etc. entfernt werden kann. Der übrige Teil der Trockensubstanz setzt sich aus zirka 10% anorganischen und 20% organischen Substanzen zusammen. Die organischen Substanzen der Melasse bestehen außer aus Rohrzucker und wechselnden Mengen Raffinose hauptsächlich aus Säuren, besonders Aminosäuren, die darin teils frei, teils an Kalium, Natrium und Kalk gebunden enthalten sind. Ferner kommen noch geringe Mengen von Abbauprodukten des Nukleïns und Pektins der Rübe als Bestandteile der Melasse in Frage.

2. Die Melasse der Zuckerraffinerien.

Sie ist in der äußeren Beschaffenheit und in der Zusammensetzung der Rohzuckermelasse sehr ähnlich, unterscheidet sich von dieser nur durch einen etwas höheren Gehalt an Zuckerzersetzungsprodukten und durch geringeren Aschegehalt.

3. Die Restmelasse der Strontian-Melasseentzuckerungsanstalten.

Diese Art von Melasse fällt beim Umkristallisieren und Reinigen des Rohzuckers ab, der durch Entzuckern der beiden erstgenannten gewöhnlichen Melassen mittelst Strontianhydrat gewonnen wird. Sie ist aschenärmer und zuckerreicher als die typische Melasse und besonders durch ihren hohen Gehalt an Raffinose ausgezeichnet.

4. Die Melasseschlempe der Strontian-Melasseentzuckerungsanstalten.

Hierunter versteht man die sich bei der Entzuckerung der gewöhnlichen Melasse mittelst Strontianhydrat ergebenden zuckerfreien Abfalllaugen, die vom überschüssigen Strontian durch Einleiten von Kohlendioxyd befreit und im Vakuum auf die Konzentration der ursprünglichen Melasse eingedickt sind. Die so erhaltene Melasseschlempe vom spezifischen Gewicht 1·40—1·42 stellt ebenfalls einen schwarzbraunen Sirup dar, der mit Ausnahme von Zucker und Raffinose alle Substanzen der Melasse enthält und dieselbe Konsistenz und äußere Beschaffenheit wie diese besitzt. Der Gehalt der Melasseschlempe an Wasser beträgt etwa 20%, an Asche 30%, an organischer Substanz 50%. Sie enthält durchschnittlich 4% Stickstoff. Die Hauptmenge der organischen Substanzen bilden Aminosäuren, Fettsäuren, Milchsäure etc. Die Reaktion der normalen Melasseschlempe ist stark alkalisch.

Scharf zu unterscheiden von dieser „Strontian-Melasseschlempe" ist

5. Die Melasseschlempe der Melassespiritus-Brennereien.

Diese „Gärungs-Melasseschlempe" bildet das Abfallprodukt der Melassebrennereien und wird nach Abdestillieren des Alkohols aus den vorgenommenen Melasselösungen durch Eindampfen gewonnen. Sie reagiert gewöhnlich stark sauer, wenn nicht beim Konzentrieren ein Zusatz von Alkali oder Kalk erfolgt ist. Äußerlich bis auf den bierähnlichen Geruch der Strontian-Melasseschlempe sehr ähnlich, ist sie wie diese zuckerfrei, unterscheidet sich aber in ihrer Zusammensetzung dadurch von ihr sehr wesentlich, daß sie nur sehr geringe Mengen Aminosäuren enthält, mit Ausnahme des Betains, das vollständig erhalten geblieben ist, da es zum Unterschiede von anderen Aminosäuren bei der Gärung durch Kulturhefe nicht angegriffen wird. Außerdem finden sich in der Gärungs-Melasseschlempe noch Abbausubstanzen aus dem Hefenuklein und eventuell die bei der Gärung entstandene und nicht abfiltrierte Hefe selbst.

Bezugsquellen für die Abfälle der Rübenzuckerindustrie. Gewöhnliche Rohzuckermelasse und Raffineriemelasse ist von jeder Rohzuckerfabrik resp. Zuckerraffinerie oder von größeren Melassefutterhandlungen zu beziehen. Restmelassen und Strontian-Melasse-

schlempe werden von den fünf deutschen Strontian-Melasseentzuckerungsanstalten in Dessau, Groß-Mochbern (bei Breslau), Hildesheim, Oschersleben und Rositz abgegeben. Gärungs-Melasseschlempe ist dünnflüssig oder konzentriert in größeren Melassebrennereien erhältlich (zum Beispiel bei *Wilkening* in Hannover und *Brüggemann* in Heilbronn).

Um aus Melasse bestimmte organische Substanzen zu gewinnen, ist es meist nötig, den Rohrzucker vorher daraus abzuscheiden. Hierzu dient am besten das folgende Verfahren, das auch auf andere saccharosehaltige Flüssigkeiten angewandt werden kann, vorausgesetzt, daß sie nur sehr wenig reduzierende Zuckerarten enthalten.

Abscheidung von Rohrzucker aus Melasse oder anderen zuckerhaltigen Flüssigkeiten mittelst des Bistrontium-Saccharatverfahrens.[1])

In eine im Sieden erhaltene 20%ige Melasselösung wird langsam soviel kristallisiertes Strontianhydrat, $Sr(OH)_2 + 8 H_2O$, unter stetem Umrühren eingetragen, daß auf 1 Teil Zucker der Melasse (durch Polarisation angezeigt) $2^1/_2$ Teile kristallisiertes Strontianhydrat kommen. Nach einiger Zeit beginnt die Abscheidung des Rohrzuckers in Verbindung mit Strontian als Bistrontium-Saccharat, $C_{12} H_{22} O_{11} + 2 SrO$ in Form eines dichten sandigen schweren Niederschlages. Das nur in der Siedehitze beständige Bistrontiumsaccharat wird nach längerem Kochen, wenn die Abscheidung beendet ist, in siedend heißem Zustande von der Melasselösung, in der es gebildet wurde, durch Absaugen auf einer Nutsche getrennt und mit kochender gesättigter Strontianhydratlösung ausgewaschen.

Die Zerlegung des so erhaltenen Bistrontium-Saccharats zur Gewinnung von Rohrzucker kann einmal in der Weise erfolgen, daß man das Saccharat in Wasser suspendiert, die Mischung auf dem Wasserbade erhitzt und sie gerade bis zum Verschwinden der Phenolphtalein-Alkalität unter starkem Rühren oder Schütteln mit Kohlensäuregas sättigt, dann vom Strontiumkarbonat abfiltriert und die eventuell noch mit Kohle behandelte und abermals filtrierte Zuckerlösung im Vakuum bei 50—60° zum Sirup verdampft, der dann der Kristallisation überlassen wird. Bei Verarbeitung größerer Mengen Melasse verfährt man indes zweckmäßiger so, daß man das heiß ausgewaschene Bistrontium-Saccharat zunächst stark abkühlt und etwa 24 Stunden mit etwas kaltem Wasser verrührt stehen läßt. Hierbei zersetzt sich das Saccharat in Rohrzucker, der in Lösung geht, und in Strontianhydrat, das sich infolge seiner schweren Löslichkeit in kaltem Wasser in Kristallen abscheidet und durch Filtrieren und Auswaschen in ziemlich reiner Form auf diese Weise fast vollständig wieder-

[1]) *Scheibler*, D. R.-P. 15.385 (1880). Das Verfahren war schon um 1860 von *M. Fleischer* erfunden und in den Fabriken Dessau und Waghäusel eingeführt. Es ist jetzt das allgemein übliche Verfahren der Strontian-Melasseentzuckerungsanstalten.

gewonnen werden kann. Aus dem zuckerhaltigen Filtrat läßt sich der verhältnismäßig kleine Rest des Strontians leicht mit Kohlensäure ausfällen, worauf dann der Zucker wie oben angegeben durch Konzentrieren der Lösung isoliert wird.

Zur Gewinnung der zuckerfreien Melasse, der Melasseschlempe, wird das heiße, vom Bistrontium-Saccharat ablaufende Filtrat zunächst stark abgekühlt, um die Hauptmenge des überschüssigen gelösten Strontianhydrats durch Kristallisation abzuscheiden. Das Filtrat der Kristalle befreit man dann mittelst Kohlensäure vom gelösten Strontian und dampft die strontiumfreie Flüssigkeit auf dem Wasserbade zum dicken Sirup ein.

Für die Gewinnung größerer Mengen organischer Substanzen aus den Abfällen der Rübenzuckerindustrie außer dem Zucker eignen sich die Restmelassen und Melasseschlempen der Strontian-Melasseentzuckerungsanstalten am besten. Im Folgenden sei die Darstellung von Raffinose aus Restmelasse und von Betain, Glutaminsäure, Leuzin und Isoleuzin, Adenin und Vernin aus Strontian-Melasseschlempe näher beschrieben.

Raffinose.

Verfahren von *Koydl*[1]) und *Stone* und *Baird*[2]): Verdünnte Melasse (am besten Strontian-Restmelasse) wird mit überschüssigem Bleiessig gefällt und das Filtrat mit Ammoniak versetzt, wodurch der größte Teil Raffinose niedergeschlagen wird. Die ausgewaschene Bleiverbindung suspendiert man in Wasser, fällt das Blei mit Kohlensäure und Soda vollständig aus und dampft die Flüssigkeit zum dünnen Sirup ein. Zu diesem fügt man auf 1 Mol. durch Polarisation angezeigter Raffinose (als Rohrzucker gerechnet) 3 Mol. kristallisiertes Strontianhydrat, erhitzt das Ganze auf dem Wasserbad 3 Stunden, filtriert das ausgeschiedene Saccharat heiß ab, wäscht mit kochender Strontianlauge aus und zerlegt es mit Kohlensäure. Die strontianfreie Flüssigkeit wird zum Sirup eingeengt, aus dem dann nach dem Impfen und Stehenlassen in etwa einer Woche die Raffinose auskristallisiert. Erfolgt die Kristallisation nicht in gewünschter Weise, so empfiehlt es sich, die Raffinose aus dem Sirup mit kaltem Methylalkohol, in dem sie sich im Gegensatz zum Rohrzucker leicht löst, zu extrahieren und den Rückstand des Extrakts erst aus Methylalkohol und dann aus Wasser fraktioniert zu kristallisieren.

Verfahren der Zuckerraffinerie Hildesheim.[3]) In Jahren, in denen die Zuckerrüben sehr viel Raffinose enthalten, reichert sich diese

[1]) Österr.-ung. Zeitschr. f. Zuckerind. Bd. **20**. S. 700; Bd. **21**. S. 92.

[2]) Neue Zeitschr. f. Rübenzuckerind. Bd. **38**. S. 193. — Nach *E. O. v. Lippmann*, Chemie der Zuckerarten. 1904. II. S. 1629.

[3]) Nach freundlicher privater Mitteilung des Herrn Direktor *Siegert*-Hildesheim.

in den Restmelassen der Strontianentzuckerungsanstalten derartig an, daß sie sich daraus oft in bedeutenden Mengen und gut kristallisiert spontan abscheidet. Ein freiwilliges Auskristallisieren der Raffinose tritt gewöhnlich ein, wenn auf 10⁰ Saccharose 35—36⁰ und mehr Raffinose in den Sirupen vorhanden sind. Zu ihrer Gewinnung kann in diesem Fall einfach so verfahren werden, daß man die lange Zeit zur Kristallisation kühl aufbewahrten Restmelassen auf einer Nutsche über Haarfilz absaugt, das zurückbleibende Rohprodukt mehrfach unter Zusatz von Tierkohle umkristallisiert und die schließlich erhaltenen Kristalle so lange mit einer verdünnten Raffinoselösung auswäscht, bis alle Saccharose beseitigt ist.

Die reine Raffinose, $C_{18}H_{32}O_{16} + 5H_2O$, kristallisiert mit 5 Mol. Kristallwasser und besitzt in wässeriger Lösung ein spezifisches Drehungsvermögen von $[\alpha]_D^{20^0} = +105{\cdot}5^0$, während Saccharose eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20^0} = +66{\cdot}5^0$ zeigt.

Betain.

Verfahren von *F. Ehrlich*[1]: In einer Kugelmühle oder in einem ähnlichen geeigneten Schüttel- oder Rührapparat wird 1 *kg* Strontian-Melasseschlempe von ca. 20⁰/₀ Wassergehalt mit 1½ *l* Äthylalkohol von 95 bis 96⁰/₀ sehr energisch längere Zeit durchgemischt. Nach einigem Stehen setzt sich die ungelöst gebliebene Schlempe als zähe Masse an dem Boden und den Wandungen des Gefäßes ab und man kann nun davon den bräunlichen alkoholischen Extrakt vollständig abgießen. Aus der alkoholischen Flüssigkeit dampft man eventuell unter Zusatz von Tierkohle und nach erfolgter Filtration den Alkohol ab, den man auf diese Weise vollständig wieder gewinnen und je nach Bedarf wieder zu einer neuen Ausschüttlung von Schlempe verwenden kann. Der aus dem Extrakt gewonnene Sirup wird auf dem Wasserbade scharf eingeengt und mit einem geringen Überschuß von konzentrierter Salzsäure übergossen einige Zeit kühl aufbewahrt, wobei zunächst anorganische Salze ausfallen. Das Filtrat wird darauf weiter eingeengt, bis es zu einem Kristallbrei von Betainhydrochlorid erstarrt, der nach längerem Stehen unter Kühlung auf Haarfilz scharf abgesaugt wird. Das Rohprodukt liefert bei zweimaligem Umkristallisieren aus Äthyl- oder Methylalkohol unter Zusatz von Kohle vollkommen reines

[1]) *Felix Ehrlich*, Verfahren zur Gewinnung von Betain und von Betainsalzen aus Melasse, Melasseschlempe und sonstigen Abläufen der Rübenzuckerfabrikation. D. R. P. Nr. 157.173, Kl. 12 g, vom 4. März 1904 (nominell auf *C. Stiepel* lautend). Nach diesem Verfahren arbeitet jetzt die Aktien-Gesellschaft für Anilin-Fabrikation in Berlin, die aus Betainhydrochlorid die pharmazeutischen Präparate „Acidol" und „Acidol-Pepsin" als Ersatz für die offizinelle Salzsäure herstellt. — Derselbe, Die organischen Nichtzuckerstoffe der Rübe und die Möglichkeit ihrer technischen Verwendung. Zentralbl. f. d. Zuckerind. Bd. **16**. S. 1271 [1908]. — Derselbe, Die technische Verwertung der Nichtzuckerstoffe der Rübe. Chemiker-Zeitung. **1911**. Nr. 73. S. 661. — Derselbe, Über die Gewinnung von Betainhydrochlorid aus Melasseschlempe. Berichte der Deutsch. Chem.-Gesellsch. **45**. S. 2409 [1912].

Betainhydrochlorid, dessen Ausbeute bei vollständiger Aufarbeitung der Mutterlaugen je nach Herkunft der Melasseschlempe 100—120 *g*, das heißt 10—12% auf die ursprüngliche Schlempe berechnet, beträgt.[1])

Um aus dem Hydrochlorid das freie Betain zu gewinnen, löst man das Salz in wenig Wasser, neutralisiert die Lösung mit Natronlauge möglichst genau gegen Phenolphtalein, verdampft die Flüssigkeit auf ein kleines Volumen und trägt den erhaltenen Kristallbrei in viel Alkohol unter Rühren ein, wobei das entstandene Natriumchlorid ausgefällt wird, während das freie Betain in den Alkohol geht. Die alkoholische Lösung ergibt beim Abdestillieren des Alkohols ein bereits ziemlich reines Betain, das man, im Falle es noch nicht ganz aschefrei ist, wieder mit Alkohol auszieht und schließlich beim Verdunsten der Lösung als rein weiße Kristallmasse erhält. Die freie Base ist sehr hygroskopisch und muß daher, damit sie nicht zerfließt, in gut verschlossenen Gefäßen aufbewahrt werden.

Verwendung des Betainhydrochlorids als Urtitersubstanz für die Alkalimetrie.

Das reine Betainhydrochlorid enthält kein Kristallwasser, ist nicht hygroskopisch und bei 110° unzersetzt zu trocknen. Es löst sich verhältnismäßig leicht in Wasser und spaltet dabei als Chlorid einer sehr schwachen Base weitgehend hydrolytisch Salzsäure ab. Man kann den Salzsäuregehalt einer solchen Lösung unter Verwendung der üblichen Indikatoren, am besten von Phenolphtalein mit Alkalilösung austitrieren und daher das reine Betainhydrochlorid mit Vorteil als bequem zu handhabende Urtitersubstanz für die Alkalimetrie benutzen.

Das Betainhydrochlorid von der Formel

$$(CH_3)_3\,N\,.\,CH_2\,.\,COOH =$$
$$Cl$$
$$= C_5\,H_{12}\,O_2\,NCl$$ (Mol. 153·5) enthält 23·78% HCl.

1·0000 *g* Betainhydrochlorid verbraucht zur Neutralisation 65·15 cm^3 $\frac{n}{10}$ Na OH.

Glutaminsäure.

Verfahren von *K. Andrlík*[2]): Zu 1 *kg* der auf 66—70° Balling entspr. 1·32—1·35 spez. Gew. eingedickten resp. verdünnten Strontian-Melasseschlempe setzt man 100 *g* 96%igen Alkohol und darauf unter fort-

[1]) Auch eingedickte Gärungsmelasseschlempe, die noch das ganze Betain der ursprünglichen Melasse enthält, ist mit Vorteil zur Darstellung des Betains zu verwenden, nur muß, im Falle die Schlempe sauer reagiert, ihr vor dem Ausschütteln mit Alkohol zweckmäßig ein Überschuß von Kalziumkarbonat beigemengt werden.

[2]) *K. Andrlík*, Darstellung der Glutaminsäure aus den Melasseabfallaugen. Zeitschrift des Vereins der Deutschen Zuckerindustrie. Bd. 53. S. 829 (1903).

während Umrühren allmählich in kleinen Portionen 125—135 g reine konzentrierte Schwefelsäure (von etwa 96—98%). Nachdem die ziemlich heftige Reaktion beendet ist, fällt man die entstandenen Sulfate der Alkalien mit 400—600 g Äthylalkohol aus, läßt das Ganze unter kräftigem Umrühren auf 50° C abkühlen und saugt dann die ausgefallenen Salze möglichst schnell über Haarfilz auf einer Nutsche ab. Das ca. 1·2—1·4 l fassende Filtrat bewahrt man längere Zeit kühl auf. Nach 24 Stunden ist gewöhnlich der größte Teil der Aminosäure auskristallisiert, die darauf abgesaugt und durch Waschen mit 80%igem Alkohol von der Mutterlauge befreit wird. Die feuchten Kristalle werden aus kochendem 50%igen Alkohol oder aus Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkristallisiert. Man erhält so als 1. Fraktion 30—50 g reine Glutaminsäure. Beim Eindampfen der Mutterlaugen und darauf folgendem Zusatz von heißem 80%igen Alkohol sind nach dem Abkühlen noch 20—30 g weniger reiner Substanz zu gewinnen.

Größere Ausbeuten an Glutaminsäure liefert folgendes Verfahren, das aber mehr Alkohol erfordert:

1 kg Melasseschlempe wird mit einer 30%igen Lösung von 400 g Weinsäure vermischt und zur Abscheidung der Alkalien sofort mit dem 3—4fachen Volumen 96%igen Alkohols versetzt. Das Filtrat dampft man auf etwa 700 cm^3 ein und fällt es mit 3 l 96%igem Alkohol. Der sich absetzende sirupöse Niederschlag wird nach einigem Stehen kristallinisch. Das aus siedendem 50%igen Alkohol oder Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkristallisierte Rohprodukt liefert bei vollständiger Aufarbeitung etwa 60—65 g reine Glutaminsäure.

Die reine Glutaminsäure schmilzt im geschlossenen Kapillarrohr bei schnellem Erhitzen bei 208° unter Zersetzung. In wässeriger Lösung dreht sie $[\alpha]_D^{20^\circ} = + 12{\cdot}1^\circ$, in 1 Mol. HCl enthaltender Lösung $[\alpha]_D^{20^\circ} = + 30{\cdot}05^\circ$.

Leuzin und Isoleuzin.

Verfahren von *F. Ehrlich*[1]): Bewahrt man stark eingedickte Strontian-Melasseschlempe in einem kühlen Raume lange Zeit auf, so setzen sich daraus beträchtliche Mengen kristallinischer Niederschläge ab. Diese bestehen anfangs aus einem schweren sandigen Pulver, das bald zu

[1]) *Felix Ehrlich*, Über neue stickstoffhaltige Bestandteile der Zuckerabläufe. Berichte des V. Internationalen Kongresses für angewandte Chemie zu Berlin. 1903. Sekt. V. Bd. 3. S. 37. — Derselbe, Über das natürliche Isomere des Leuzins. I. Mitt. Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. 37. S. 1809—1840 (1904). — Derselbe, Über den neuen optisch-aktiven Nichtzucker, das Isoleuzin. Zeitschr. d. Vereines d. Deutschen Zuckerindustrie. Bd. 54. S. 775—803 (1904). — Derselbe, Über das natürliche Isomere des Leuzins. II. Mitt. Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. 40. S. 2538—2562 (1907). — *F. Ehrlich* und *A. Wendel*, Zur Kenntnis der Leuzinfraktion des Eiweißes. Biochem. Zeitschr. Bd. 8. S. 399—437 (1908).

Boden sinkt und hauptsächlich anorganische Salze umschließt. Später erst sammelt sich über dem sandigen Bodensatz häufig in sehr dicker, fast den ganzen Sirup erfüllender Schicht eine spezifisch leichtere, fein verteilte, zähe, schlammige Masse mikroskopisch feinster Kriställchen, die bei genügend langdauerndem Stehen der mindestens auf 1·41 spez. Gew. konzentrierten Schlempen große Quantitäten Leuzin und Isoleuzin enthalten. Der Gehalt der Niederschläge an diesen Aminosäuren ist sehr verschieden je nach der Herkunft der betreffenden Melasseschlempe, je nach der Arbeitsweise der Fabrik, je nach der Stärke der Konzentration und der Art der Behandlung und Aufbewahrung der Schlempe, so daß sich hier keine allgemein gültigen Ausbeuteverhältnisse angeben lassen. Am meisten Leuzine sind bisher stets aus der Dessauer Melasseschlempe erhalten worden, in günstigsten Fällen bis zu 1—2% ihrer Trockensubstanz. Doch schwanken auch hier bei gleicher Behandlungsweise die Ausbeuten an Leuzinen aus den Schlempen verschiedener Jahrgänge sehr beträchtlich, was auf den je nach Düngung, Kultur, Witterung, Standort etc. wechselnden Gehalt an gelöstem Eiweiß oder Aminosäuren in den ursprünglichen Rüben zurückzuführen ist.

Zur Abscheidung der leuzinhaltigen Niederschläge aus den Melasseschlempen verfährt man am besten in der Weise, daß man den oberen dünnflüssigeren kristallfreien Teil der Schlempe abdekantiert und die dicke Kristallmasse mittelst einer guten Pumpe auf einer Nutsche mit großer Oberfläche über feinen Haarfilz in kleinen Portionen absaugt, wobei man jedesmal die zurückbleibenden Kristalle von dem Filztuche entfernt. Das Absaugen braucht nur soweit zu erfolgen, daß die Masse gerade noch mit brauner Mutterlauge durchtränkt ist.

Zur Isolierung der Leuzine wird der so erhaltene dicke Kristallbrei in einer Kugelmühle oder in einem ähnlichen Misch- oder Rührgefäß zu je 1 *kg* mit 2 *l* 96%igem Alkohol und 100 cm^3 25%igem wässerigen Ammoniak durchgeschüttelt. Darauf läßt man absitzen, schüttet den braunen ammoniakalisch-alkoholischen Extrakt von dem am Boden und an den Wandungen des Gefäßes haftenden Sirup ab, kocht ihn mit Tierkohle auf, filtriert und destilliert aus dem Filtrat den Alkohol ab, der nach eventuellem Zusatz von Ammoniak wieder zur Ausschüttlung von neuen Mengen der Schlempeniederschläge zu verwenden ist. Der erhaltene sirupöse Extrakt wird nach einiger Zeit offen in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad erhitzt. Beim Abkühlen erstarrt er vollständig zu einem Brei von Kristallen, die nach einigem Stehen abgesaugt und mehrmals mit Alkohol, der einige Tropfen Ammoniak enthält, gewaschen werden. Man gewinnt so die Leuzine in Form eines lockeren fast farblosen Pulvers, dessen Gesamtmenge bei Aufarbeitung der Mutterlaugen im besten Falle etwa 30 *g* beträgt.

Um aus dem Gemisch der Leuzine zunächst das Isoleuzin zu isolieren, werden 20 *g* des Rohproduktes in einer geräumigen Porzellanschale in 1 *l* Wasser gelöst und in die kochende Lösung 15 *g* feingepulvertes Kupfer-

karbonat eingetragen. Darauf dampft man das Ganze zur Trockene ein und extrahiert den Rückstand erschöpfend mit konzentriertem reinen Methylalkohol. Die tiefblaue methylalkoholische Lösung ergibt beim Verdunsten ein Kupfersalz, das durch Kristallisation aus wenig 90%igem Alkohol leicht zu reinigen ist. Das so in glänzenden blauen Blättchen erhaltene Isoleuzinkupfer wird mit Schwefelwasserstoff in der Hitze zerlegt, wobei sich zur besseren Abscheidung des Schwefelkupfers ein Zusatz von frisch gefälltem Tonerdebrei empfiehlt. Die beim Verdampfen des Filtrats verbleibende Aminosäure suspendiert man in heißem Alkohol und setzt hierzu unter stetem Kochen tropfenweise soviel Wasser, daß gerade vollständige Lösung eintritt. Von einer noch bestehenden Trübung wird nach Aufkochen mit Kohle heiß abfiltriert und das Filtrat mit absolutem Alkohol übersättigt. Nach nochmaligem Umkristallisieren erhält man auf diese Weise im ganzen etwa 6·5 *g* reines Isoleuzin aus 20 *g* Rohprodukt. Weitere Mengen lassen sich noch bei der Zerlegung der in Methylalkohol unlöslichen Kupfersalze isolieren.

Zur Gewinnung des Leuzins und gleichzeitig zur vollständigen Abscheidung des Isoleuzins, dessen Kupfersalz mit dem des Leuzins hartnäckig Mischkristalle bildet, wird das in Methylalkohol unlösliche Kupfersalz in Wasser suspendiert, heiß mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat vom Schwefelkupfer nach dem Aufkochen wieder mit überschüssigem Kupferkarbonat behandelt und die nach dem Eintrocknen erhaltenen Kupfersalze von neuem mit Methylalkohol erschöpfend extrahiert. Hierbei wird wiederum ein Teil Isoleuzin vom Leuzin abgetrennt. Führt man dieses Verfahren mit dem jedesmal unlöslich verbleibenden Kupfersalz in der angegebenen Weise 3—4mal weiter fort, so erzielt man schließlich eine vollständige Entmischung der beiden Aminosäuren, und das zuletzt unlöslich in Methylalkohol zurückbleibende Kupfersalz liefert dann bei der Zerlegung ein isoleuzinfreies Leuzin. Diese Methode, die auch auf die Leuzine jedes Eiweißkörpers anwendbar ist, ergibt bei den Leuzinen der Melasseschlempe ein partiell razemisiertes Leuzin, das bereits infolge der alkalischen Reaktion der Säfte im Zuckerfabriksbetriebe seine optische Aktivität zum Teil eingebüßt hat.

Das reine optisch-aktive natürlich vorkommende l-Leuzin hat eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20^\circ} = -10{\cdot}34^\circ$ in H_2O und $[\alpha]_D^{20^\circ} = +15{\cdot}4^\circ$ in 20%iger Salzsäure.[1]

Das d-Isoleuzin aus Melasseschlempe dreht in wässeriger Lösung $[\alpha]_D^{20^\circ} = +9{\cdot}74^\circ$, in 20%iger Salzsäure $[\alpha]_D^{20^\circ} = +36{\cdot}80^\circ$. Es enthält in geringen Mengen das entgegengesetzt drehende d-Allo-isoleuzin beigemengt, das sich ebenfalls infolge der alkalischen Reaktion der Zuckersäfte durch

[1] *Felix Ehrlich*, Über eine Methode zur Spaltung razemischer Aminosäuren mittelst Hefe. Biochem. Zeitschr. Bd. 1. S. 26 (1906).

Umlagerung aus d-Isoleuzin gebildet hat.[1] Das reine d-Isoleuzin dreht wahrscheinlich höher, und zwar in H_2O $[\alpha]_D^{20^\circ} = + 11{\cdot}3^\circ$ und in 20%iger Salzsäure $[\alpha]_D^{20^\circ} = + 40{\cdot}61^\circ$.[2]

Adenin.

Verfahren von *K. Andrlík*[3]): 1 Teil Strontian-Melasseschlempe wird mit 2 Teilen Wasser verdünnt, die Lösung mit 0·1 Teil Kupfervitriol und nach 1stündigem Kochen mit 0·03 resp. 0·04 Teilen Ätznatron versetzt, nochmals ½ Stunde gekocht, kochendheiß durch Leinwand filtriert und der zurückgehaltene Niederschlag mit heißem Wasser ausgewaschen. Der Rückstand wird in etwa der sechsfachen Menge Wasser verteilt und in die Flüssigkeit Schwefelwasserstoff unter Zusatz von Ätzbaryt (auf 1 Teil Melasseschlempe ca. 0·2—0·3 Teile) eingeleitet. Die vom Schwefelkupfer abfiltrierte und mit Kohlensäure gesättigte Lösung wird zum Sirup eingedickt, wobei sich Krusten abscheiden, die in der Wärme durch Absaugen von der sirupösen Mutterlauge befreit werden. Die Krusten, die hauptsächlich aus Adenin bestehen, werden zur Reinigung in warmer verdünnter Salzsäure gelöst und die Lösung auf dem Wasserbad zur Kristallisation eingedampft. Nach dem Erkalten werden die abgeschiedenen Kristalle mit einer kleinen Menge kaltem Wasser gewaschen, in warmem Wasser gelöst, die Lösung mit Ammoniak übersättigt, der gebildete geringe Niederschlag abfiltriert und das Filtrat zur Trockne verdampft. Aus dem Rückstande werden mit kaltem Wasser Chlorammonium und geringe Mengen farbiger Substanzen ausgelaugt, der Rückstand in heißem Wasser gelöst, die Lösung mit Tierkohle entfärbt und der Kristallisation überlassen, die eventuell wiederholt wird, wobei dann reines Adenin resultiert. Aus 40 *kg* Melasseschlempe sind etwa 20 *g*, d. h. also 0·05% Adenin zu gewinnen, ein Teil davon in fester Form, während der Rest im Sirup verbleibt, bei dessen Aufarbeitung außer Vernin (siehe den folgenden Abschnitt) noch eine weitere Menge Adenin zu erhalten ist. Aus dem Sirup kann man auch den Rest des Adenins mittelst Pikrinsäure fällen. Das umkristallisierte Pikrat wird dann zur Isolierung des Adenins mit Salzsäure versetzt, die Pikrinsäure durch Ausschütteln mit Äther oder Benzol beseitigt und aus dem verbleibenden Adeninchlorid mittelst Ammoniak Adenin freigemacht. Auf diese Weise werden noch weitere 0·03% Adenin gewonnen, so daß die Gesamtausbeute an Adenin etwa 0·08% der Melasseschlempe beträgt.

[1]) *F. Ehrlich*, Über das natürliche Isomere des Leuzins. II. Mitt. Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. **40**. S. 2538 (1907).

[2]) *R. Locquin*, Propriétés des acides α-amino-β-méthyléthylpropioniques optiquement actifs et de leurs dérivés. Identification avec l'isoleucine de M. *F. Ehrlich*. Bull. Soc. Chim. 4e Ser. T. **1**. p. 595 (1907).

[3]) *K. Andrlík*, Über die Darstellung des Adenins aus Melasseabfallaugen. Zeitschrift f. Zuckerindustrie in Böhmen. Bd. **34**. S. 567 (1910).

Vernin.

Verfahren von *K. Andrlík*[1]: 40 *kg* Strontian-Melasseschlempe werden in 60 *l* Wasser gelöst, mit einer Lösung von 4 *kg* Kupfervitriol in 8 *l* Wasser versetzt, das Gemisch etwa 1 Stunde gekocht, um vorhandene Saccharose zu invertieren, sodann eine Lösung von 1000 *g* Ätznatron in 8 *l* Wasser zugegeben und wiederum ½ Stunde gekocht. Der abgeschiedene rostfarbene Niederschlag wird auf einem Leinwandfilter gesammelt und nach dem Auswaschen mit heißem Wasser mit Wasser ausgekocht, nochmals auf das Filter gebracht und mit heißem Wasser so lange gewaschen, bis das Filtrat farblos abläuft und mit α-Naphtol und Schwefelsäure nicht mehr die Zuckerreaktion ergibt. Der ausgewaschene Niederschlag wird in heißem Wasser suspendiert, nach Zusatz von Ätzbaryt vollständig mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Nach Entfernung des Schwefelkupfers sättigt man die Lösung mit Kohlensäure, filtriert vom Baryumkarbonat ab, dampft zum Sirup ein und saugt das ausfallende wenig lösliche Adenin noch warm ab. Das sirupöse Filtrat erstarrt beim Abkühlen zu einer weichen von kristallinischen kugeligen Aggregaten durchsetzten Masse. Durch wiederholtes Umkristallisieren und Behandlung mit Tierkohle gewinnt man etwa 14 *g* vollkommen reines und 2 *g* weniger reines Vernin, d. h. im ganzen ca. 0·04% der Melasseschlempe.

Auch gewöhnliche Rohzuckermelasse kann man nach diesem Verfahren auf Vernin verarbeiten und erhält dabei aus 10 *kg* Melasse etwa 2 *g* Vernin, d. h. 0·02% der Melasse.

Das Vernin von der Formel $C_{10}H_{13}N_5O_5 + 2H_2O$ ist eine Guanin-d-Ribose. Die reine kristallwasserhaltige Substanz besitzt in einer Lösung von 1·5% Schwefelsäure eine spezifische Drehung von $[\alpha]_D^{20°} = -8·4°$.

[1] *K. Andrlík*, Über ein Guaninpentosid aus Melasseabfallaugen. Zeitschr. f. Zuckerindustrie in Böhmen. Bd. 35. S. 437 (1910—1911). — *E. Schulze* und *Trier*, Zur Frage der Identität des aus Melasse dargestellten Guaninpentosids mit dem Vernin. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 76. S. 145 (1911—1912).

Die wichtigsten Methoden zur Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel.

Von **Max Klostermann**, Halle a. S.

Einleitung.

Die gesamte Nahrungsmittelchemie läßt sich in 3 Teile zergliedern.

Die wissenschaftliche Nahrungsmittelchemie erforscht die Zusammensetzung der Nahrungsmittel sowie die Veränderungen, welche sie beim Aufbewahren und Herrichten erleiden, und übernimmt zugleich die Ausarbeitung der erforderlichen Untersuchungsverfahren.

Die eigentliche Nahrungsmitteluntersuchung erforscht die Beschaffenheit, den Nährwert und die Eignung der Nahrungsmittel zum Genuß und beurteilt sie auf Grund ihrer Zusammensetzung und ihres Nährwertes.

Als praktische Anwendung beider schließt sich die Nahrungsmittelkontrolle an, die die Kenntnis der einschlägigen Gesetze und Verordnungen, sowie der Herstellung und Verfälschung der Nahrungsmittel voraussetzt. Ihr liegt die Beaufsichtigung des Verkehrs mit Nahrungsmitteln ob und ihre Beurteilung auf Grund der gesetzlichen Bestimmungen und bestimmter „Normen".

Die Nahrungsmittelchemie umfaßt daher ein sehr umfangreiches Gebiet und entnimmt eine größere Anzahl von Untersuchungsverfahren auch anderen nichtchemischen Gebieten. Als solche sind zu nennen die Botanik, Physik, Hygiene und Bakteriologie. Als angewandte Chemie nähert sie sich auch wieder den Grenzgebieten der reinen und anderen Gebieten der angewandten Chemie, z. B. der physiologischen Chemie, der physikalischen Chemie, der Biochemie, der Gärungschemie usw.

Im folgenden soll eine Zusammenstellung der wichtigsten chemischen Untersuchungsverfahren gegeben werden, wobei auch häufig benutzte physikalische Verfahren berücksichtigt worden sind; auf andere nichtchemische Verfahren ist wenigstens hingewiesen und durch Literaturangaben wird das Auffinden erleichtert. Nicht berücksichtigt werden konnte die Botanik und die Beurteilung auf Grund der Untersuchungsergebnisse, da dies den Rahmen des Werkes überschritten hätte. Um aber hierfür

wenigstens Anhaltspunkte zu geben, ist am Anfang jedes Kapitels die durchschnittliche Zusammensetzung und die Herkunft der Nahrungsmittel kurz angegeben worden.

Das Bedürfnis nach geeigneten Untersuchungsverfahren wurde namentlich dringend, als es darauf ankam, bei der Beaufsichtigung des Verkehrs mit Nahrungsmitteln Verfahren anzuwenden, welche einwandfreie Ergebnisse liefern und zugleich durch Einfachheit der Ausführung den praktischen Zwecken entsprechen.

Es kam hierbei besonders auf einheitliche Methoden an, damit auch dann, wenn verschiedene Analytiker den gleichen Gegenstand untersuchen, die Ergebnisse möglichst sicher und übereinstimmend ausfallen. Um aus der Fülle der bekannten Verfahren die besten herauszusuchen, vereinigten sich auf dem Gebiete der Nahrungsmitteluntersuchung erfahrene Chemiker unter Leitung des kaiserlichen Gesundheitsamtes in Berlin, um die Bearbeitung der einzelnen Gegenstände durchzusprechen und zu verteilen. 1902 wurde die Arbeit abgeschlossen und unter dem Namen „Vereinbarungen zur einheitlichen Untersuchung und Beurteilung von Nahrungs- und Genußmitteln sowie Gebrauchsgegenständen für das Deutsche Reich" während der Zeit von 1897 bis 1902 veröffentlicht.

Diese vereinbarten Verfahren haben zwar keinen verbindlichen oder amtlichen Charakter, aber sie wurden für die empfehlenswertesten gehalten und bilden auch heute noch die Grundlage für die Untersuchungen.

Im Laufe der Zeit sind naturgemäß eine große Zahl von Verfahren aus mehrfachen Gründen abänderungs- oder erweiterungsbedürftig geworden. Die serologischen Untersuchungen z. B. waren damals noch kaum bekannt oder gehörten noch zu dem Spezialgebiet der Bakteriologen und hatten noch keine Anwendung auf die Nahrungsmitteluntersuchung gefunden.

Das Erscheinen ganz neuer Nahrungsmittel brachte es ferner mit sich, daß die Verfahren zum Teil geändert und ergänzt werden mußten. Außerdem war auch eine große Anzahl neuer Methoden im Laufe der Zeit aufgekommen und unter anderen hat sich auch das Kaiserliche Gesundheitsamt mit der kritischen Sichtung und Nachprüfung neuer Untersuchungsverfahren beschäftigt.

Aus dem Gesagten geht hervor, daß auf dem Gebiete der Nahrungsmittelchemie alles noch in einem gewissen Fluß begriffen ist, was eine geeignete Auswahl unter den verschiedenen Untersuchungsverfahren erschwert.

Im folgenden sollen daher nicht alle bekannten oder empfohlenen Verfahren beschrieben werden, sondern nur solche, welche in der Praxis angewendet werden und gute Ergebnisse liefern. Für eingehende Studien ist „Die Chemie der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel" von König als das ausführlichste und neueste Werk zu empfehlen.

Schließlich gibt es in Deutschland noch sogenannte amtliche Verfahren, die für die Untersuchung einiger Nahrungsmittel vorgeschrieben

und als Anlagen zu bestimmten Gesetzen veröffentlicht worden sind. Diese Anweisungen werden als „amtliche“ hervorgehoben werden.

An Literatur sind in erster Linie die „Vereinbarungen zur einheitlichen Untersuchung und Beurteilung von Nahrungs- und Genußmitteln sowie Gebrauchsgegenständen für das Deutsche Reich“ (Berlin. Verlag von Jul. Springer) benutzt worden, ferner das oben angeführte Werk von *J. König* (Berlin 1910. Verlag von Jul. Springer). Die weitere Literatur ist bei den einzelnen Autoren angegeben.

I. Allgemeine Untersuchungsverfahren.

In diesem Kapitel wird eine Reihe von Verfahren beschrieben werden, welche für die meisten Nahrungsmittel brauchbar sind: um Wiederholungen zu vermeiden, werden sie hier gemeinsam zusammengestellt.

Bestimmung des Wassers.

Die Bestimmung des Wassers in Nahrungs- und Genußmitteln erfolgt stets indirekt, d. h. es wird der beim Trocknen gefundene Gewichtsverlust als „Wasser“ bezeichnet.

Für eine genaue Bestimmung ist eine möglichst gute Durchschnittsprobe erforderlich; diese gewinnt man durch sorgfältiges Mischen einer größeren Menge des Ausgangsstoffes nach genügendem Zerkleinern oder Mahlen. Hierbei ist aber zu berücksichtigen, daß viele Stoffe hygroskopisch sind und Wasser aus der Luft aufnehmen, andere dagegen leicht Wasser, z. B. Kristallwasser, verlieren.

1. Bestimmung des Wassers in festen Stoffen.

Feste, lufttrockene Stoffe trocknet man nach genügender Zerkleinerung in einem Trockenschranke bei 100—105° C bis zum konstanten Gewichte. Angewendet werden 5—10 *g*.

Bei sehr wasserreichen festen Stoffen (Fleisch, Wurzelgewächsen, Gemüsen etc.) empfiehlt sich ein Vortrocknen bei 40—50° C, indem man sie entweder unter möglichster Vermeidung eines Wasserverlustes in dünne Scheiben zerschneidet und diese an dünnen Drähten aufspießt, oder indem man sie nach dem Zerschneiden in flachen Porzellanschalen ausbreitet und einige Tage bei gleicher Temperatur vortrocknet. Man verwendet gewöhnlich zunächst eine größere Menge (etwa 500 *g*) und läßt sie nach dem Vortrocknen 2—3 Stunden an der Luft liegen, bis sie lufttrocken ist und beim Wiegen und Zerkleinern keine wesentliche Feuchtigkeit mehr aufnimmt. Die Substanz wird dann gewogen, zerkleinert und sofort in gutschließende Glasbüchsen gefüllt. Hiervon werden kleinere Proben zum vollständigen Austrocknen bei 100—105° C verwendet.

Aus diesen Bestimmungen berechnet man den Wassergehalt.

2. Bestimmung des Wassers in sirupartigen Massen und Flüssigkeiten.

Bei flüssigen, sirupartigen, gelatinösen und ähnlichen Massen ermittelt man den Wassergehalt in der Weise, daß man eine Platinschale mit etwa 20 *g* Seesand oder mäßig feingepulvertem Bimsstein und einem kurzen Glasstab beschickt. Die Schale mit Inhalt wird ausgeglüht, im Exsikkator erkalten gelassen und gewogen; dann wiegt man soviel des zu untersuchenden Stoffes, wie 1—2 *g* Trockensubstanz entspricht, hinein, dampft im Wasserbade ein und trocknet bei 100—105° C bis zur Gewichtsgleichheit. Um Wasserverdunstung zu vermeiden, ist die Schale während des Wiegens mit einem Uhrglase zu bedecken.

Besteht ein Gegenstand aus einer festen Masse und einer Flüssigkeit und kann keine hinreichend gleichmäßige Mischung erhalten werden, so müssen die festen und flüssigen Anteile getrennt untersucht werden.

Das Trocknen soll nach den „Vereinbarungen" bei 100—105° C geschehen, es wird aber gewöhnlich bei 100—110° C vorgenommen, und zwar werden gewöhnlich zwei Bestimmungen ausgeführt, von denen, falls sie genügend übereinstimmen, das Mittel genommen wird. Zum Trocknen werden Trockenschränke aller Art verwendet, jedoch gibt es für einige Stoffe besondere Schränke, von denen u. a. der nach *Soxhlet*[1]) zu erwähnen ist.

Der Trockenraum dieses Schrankes ist 47 *cm* lang, 9·5 *cm* breit, 3·0 *cm* hoch und ringsum, mit Ausnahme der Einführungsöffnung, mit 60%iger Glyzerinlösung (Siedepunkt 109°) gefüllt. Am Boden befinden sich acht Messingröhren von 15 *mm* Durchmesser, die an der hinteren inneren Wand und an der Vorderwand des äußeren Kastens eingelötet sind und von der siedenden Flüssigkeit umspült werden. Das Verschlußstück bildet eine mit Filz bezogene Holzplatte, welche mittelst einer Feder in die Öffnung des Trockenraumes eingepreßt wird. Dicht hinter der Einführungsöffnung ist in der oberen Wand ein kurzer, 40 *mm* weiter Rohrstutzen angelötet, welcher nach außen geht. Diese Öffnung bildet mit den acht Messingröhren eine Lüftungsvorrichtung, welche für ständige Erneuerung der Luft sorgt; die volle Wirkung wird aber erst erreicht, wenn man den Rohrstutzen mit einem etwa 1 *m* langen und 40 *mm* weiten Messingrohr verbindet, in welchem eine kleine Lockflamme brennt, um den Zug zu verstärken. Ein Glimmerfenster gestattet die Beobachtung der Flammengröße in diesem Kamin. Durch diese Anordnung erzielt man einen Luftstrom von stündlich etwa 10 *cm*³, welcher die acht Heizröhren passiert, nahezu die Temperatur der siedenden Flüssigkeit annimmt, über die zu trocknende Substanz hinweggeht und durch den Kamin nach außen abzieht. Die Geschwindigkeit des Luftstromes ist aber so geregelt, daß auch von den leichtesten Stoffen nichts fortgerissen wird. Zur Erhaltung eines gleichen Flüssigkeitsstandes und gleicher Konzentration des Glyzerins

[1]) Zeitschr. f. angew. Chemie. 1891. S. 363. — *König*, Chemie d. menschl. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 3. S. 20.

dient ein Kugelkühler. Zum Trocknen wird die Substanz in flache Nickelschalen von 90 *mm* Durchmesser und 10 *mm* Höhe gebracht. Beim Wiegen bedeckt man sie mit einem Deckel von Nickelblech mit übergreifendem Rand. Die Schalen werden mit einer langgestielten Schaufel in den Trockenraum geschoben und ebenso wieder herausgenommen.

Der Vorzug dieses Trockenschrankes besteht im schnellen Austrocknen von Stoffen, wie Milch, Bier, Sirup usw., besonders wenn sie mit Lockerungsmitteln, wie Bimssteinpulver, vermengt worden sind.

Auch für die Untersuchung von Wein gibt es eine besondere Art von Trockenschrank, der aber auch zum Trocknen ähnlicher extrakthaltiger Flüssigkeiten, wie Bier, Honig u. dgl., verwendet werden kann. Die einzelnen Zellen sind im Lichten 100 *mm* tief, 100 *mm* breit und 50 *mm* hoch und müssen von lebhaft siedendem Wasser umgeben sein, zu welchem Zwecke der Trockenschrank entweder mit Vorrichtung für gleichbleibenden Wasserstand oder mit Rückflußkühler versehen ist. Unter dieser Voraussetzung ist es gleich, wie viele solcher Zellen zu einem Schranke vereinigt werden. Die in festen Gelenken und Angeln gehenden Türen sind auf der Innenseite mit Asbest ausgekleidet und führen zur besseren Lüftung am Boden und an der Decke je drei kreisrunde Löcher von 2 *mm* Durchmesser. Zum Schutze gegen die Verbrennungsgase der Flamme ist an der Unterseite ein etwa 45 *mm* breites Blech angebracht; die Schalen stehen nicht unmittelbar auf dem Boden der Zellen, sondern auf besonderen Dreifüßen oder Einsätzen.

Bestimmung des Stickstoffes und seiner Verbindungen.

In der Regel begnügt man sich mit der Bestimmung des Gesamtstickstoffes, vervielfacht diesen mit 6·25 und erhält die sogenannte „Stickstoffsubstanz", wobei man von der Annahme ausgeht, daß die Stickstoffsubstanzen (Eiweißstoffe) durchschnittlich 16% Stickstoff enthalten.

Zum qualitativen Nachweis führt man den Stickstoff organischer Verbindungen durch Schmelzen mit metallischem Kalium oder einem Gemenge von Kaliumkarbonat und Magnesiumpulver in Cyanverbindungen über. Die wässerige Lösung der Schmelze wird mit wenig Ferrosulfat- und Eisenchlorid gelinde erwärmt und mit Salzsäure angesäuert. Färbt sich die Lösung blau, durch Bildung von Berlinerblau, so war in der Substanz Stickstoff enthalten. Auch die Rhodanreaktion ist empfindlich. Zu diesem Zwecke dampft man die Lösung der Schmelze unter Zusatz von Schwefelammonium bis zur Trockene ein und prüft mit Salzsäure und Eisenchlorid, ob Rhodanide vorhanden sind.

1. Bestimmung des Gesamtstickstoffes.

Das Verfahren von *Will-Varrentrapp* wird kaum noch angewendet und ebenso das von *Dumas*, welches allerdings den Vorzug hat, für jede Substanz brauchbar zu sein.

Ganz allgemein wird jetzt nach dem einfacheren Verfahren von *Kjeldahl* gearbeitet, welches darauf beruht, daß der Stickstoff in organischen Stoffen durch Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure bei Gegenwart oxydierender Mittel vollständig in Ammoniumsulfat übergeführt wird.

Zur Aufschließung verwendet man folgende Säuremischungen:

a) 4 Volumen konzentrierte und 1 Volumen rauchende Schwefelsäure; auf jedes Liter setzt man 100 *g* Phosphorsäureanhydrid hinzu *(Wilfahrt)*.

b) 1 Liter konzentrierte Schwefelsäure und 200 *g* Phosphorsäureanhydrid *(Kellner)*.

c) Ein Teil Kaliumsulfat und 2 Teile konzentrierte Schwefelsäure *(Gunning)*.

d) 5—10 *g* Kaliumsulfat, 25 *cm*³ Schwefelsäure und 1 Tropfen Quecksilber *(Wohltmann)*.

Bei schwer verbrennlichen Stoffen sind Säuremischungen, welche Phosphorsäureanhydrid enthalten, vorzuziehen.

Man verfährt gewöhnlich am besten nach *Gunning* und *Attenberg*[1], welche 20 *cm*³ konzentrierte Schwefelsäure und 1 *g* metallisches Quecksilber verwenden. Nach dem Auflösen gibt man 15—18 *g* Kaliumsulfat hinzu und die Zerstörung ist dann meistens in 2—3 Stunden beendet. Das Erhitzen hat zunächst langsam zu erfolgen. Nach vollständiger Zerstörung setzt man 250 *cm*³ Wasser hinzu, sodann 80 *cm*³ salpetersäurefreie Natronlauge vom spez. Gew. 1·35 und 25 *cm*³ einer Schwefelkaliumlösung, welche 40 *g* Schwefelkalium im Liter enthält. Nach Zusatz von etwas Zinkpulver wird sofort ein Destillationsrohr aufgesetzt, destilliert und das Destillat in eine abgemessene Menge von ¹/₄-Normalschwefelsäure und genügend Wasser eingeleitet, so daß die Spitze des Destillationsrohres in die Flüssigkeit eintaucht. Zum Zurücktitrieren der überschüssigen Schwefelsäure mit ¹/₄-Normalkalilauge wird Kongorot als Indikator benutzt.

Die Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* hat den Vorteil, daß die Stoffe nur so weit vorgetrocknet zu werden brauchen, daß es möglich ist, 1—2 *g* einer guten Durchschnittsprobe zu erhalten.

Bei grobpulverigen oder solchen Stoffen, von denen (z. B. Fleisch, Fleischerzeugnisse, Gemüse etc.) schwer eine gleichmäßige Mischung herzustellen ist, verfährt man zweckmäßig in der Weise, daß man 10—20 *g* mischt und in einer Porzellanschale mit 150 *cm*³ der Schwefelsäuremischung unter Umrühren so lange auf dem Wasserbade erwärmt, bis sich alles zu einem gleichmäßigen Brei gelöst hat. Darauf gießt man die Lösung in ein 200 *cm*³ fassendes Kölbchen, spült mit dem Schwefelsäuregemisch nach, läßt erkalten und füllt auf 200 *cm*³ auf. Hiervon werden 20 *cm*³ (entsprechend 1·0—2·0 *g* Substanz) abgemessen und in üblicher Weise nach *Kjeldahl* weiter verbrannt.

Von Flüssigkeiten werden 50—500 *cm*³, nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure, im Verbrennungskolben bis auf 20—30 *cm*³ verdampft und dann nach Zusatz des Schwefelsäuregemisches weiter verbrannt.

[1]) Chem.-Zeitung, Bd. 22, S. 505 (1898).

Bei Gegenwart von Nitraten-, Nitriten-, Nitro-, Nitroso-, Azo-, Diazo- usw. Verbindungen liefert das *Kjeldahl*sche Verfahren keine sicheren Ergebnisse, und man muß dann das Verfahren von *Jodlbaur*[1]) anwenden. Man mischt etwa 1 *g* des betreffenden Stoffes in einer Reibschale mit 2—3 *g* gebranntem, fein gepulvertem Gips und bringt die Mischung in einen *Kjeldahl*-Kolben. Hierzu fügt man unter Abkühlung 25 *cm*³ Phenolschwefelsäure (40 *g* Phenol auf 1 Liter konzentrierte Schwefelsäure von 66° Bé, und mischt vorsichtig durch leichtes Hin- und Herbewegen. Nach Verlauf von ungefähr 5 Minuten fügt man ganz allmählich und unter Abkühlung 2—3 *g* durch Waschen mit Wasser gereinigten Zinkstaub, sowie 2 Tropfen Quecksilber hinzu. Nun wird gekocht, bis die Flüssigkeit nicht mehr gefärbt ist. Nach dem Erkalten wird das Ammoniak wie bei der Bestimmung nach *Kjeldahl* ermittelt.

Es ist für die Sicherheit dieses Verfahrens wesentlich, daß die zu verbrennenden Stoffe nicht zu feucht, sondern genügend trocken sind.

Durch Multiplizieren mit dem Faktor 6·25 rechnet man den gefundenen Stickstoff auf „Stickstoffsubstanz" oder „Rohproteïn" um.

2. Bestimmung des Reinproteïns.

Will man erfahren, wieviel wirkliches Proteïn in einem Nahrungsmittel vorhanden ist, so wird dies nach einem besonderen Verfahren von *A. Stutzer*[2]) bestimmt, welches von *F. Barnstein*[3]) vereinfacht worden ist. Es werden 1—2 *g* des zu untersuchenden Stoffes durch ein 1 *mm*-Sieb gebracht und in einem Becherglase mit 50 *cm*³ Wasser aufgekocht; stärkehaltige Stoffe werden 10 Minuten im Wasserbade erhitzt. Hierzu setzt man 25 *cm*³ einer Kupfersulfatlösung, welche 60 *g* kristallisiertes Kupfersulfat im Liter enthält, und darauf unter Umrühren 25 *cm*³ einer Natronlauge, welche 12·5 *g* Natriumhydroxyd im Liter enthält. Nach dem Absetzen wird die überstehende Flüssigkeit durch ein Filter abgegossen; der Niederschlag wird in gleicher Weise wiederholt mit Wasser behandelt, schließlich auf das Filter gebracht und mit warmem Wasser so lange ausgewaschen, bis das Filtrat mit Ferrocyankalium- oder Chlorbaryumlösung keine Reaktion mehr gibt. Dann wird der Stickstoffgehalt des Filterinhaltes nach *Kjeldahl* bestimmt.

Beim Vermischen von 25 *cm*³ Kupfersulfatlösung und 25 *cm*³ Natronlauge der genannten Konzentration entsteht ein basisches Kupfersulfat, welches etwa 0·38 *g* Kupferhydroxyd enthält und das offenbar der wirksame Bestandteil ist, der den Niederschlag erzeugt. Die überstehende Flüssigkeit zeigt noch deutliche Reaktion auf Kupfer. Nach diesem Verfahren werden auch dann noch richtige Werte erhalten, wenn das Natron in so

[1]) Landw. Versuchstation. Bd. 35. S. 447 (1888).

[2]) Report. f. analyt. Chem. 1885. S. 162.

[3]) Landw. Versuchstation. Bd. 54. S. 327 (1900). — *J. König*, Chem. d. N. u. G. Bd. 3. I. S. 253.

großer Menge hinzugefügt wird, daß das Kupfer nicht als basisches Salz, sondern vollständig als Oxydhydrat ausgefällt wird; die Menge der Natronlauge darf aber nicht so groß sein, daß die Flüssigkeit über dem Niederschlag alkalisch reagiert.

A. Stutzer[1]) schlägt vor, so viel Natronlauge zuzusetzen, daß $^2/_3$ des Kupfers als Hydroxyd und der Rest als basisches Sulfat ausgeschieden wird, während nach der Vorschrift von *Barnstein* nur $^1/_4$ des Kupfers als Hydroxyd und $^3/_4$ als basisches Sulfat abgeschieden wird. *A. Stutzer* empfiehlt daher, auf 1 *g* Substanz 100 *cm*³ Wasser, 20 *cm*³ 10⁰/₀ige Kupfersulfatlösung und 20 *cm*³ 2·5⁰/₀ige Natronlauge zu verwenden.

Auch bei der Bestimmung des Reinproteïns wird allgemein der Faktor 6·25 gebraucht, obgleich man sich wohl bewußt ist, daß für pflanzliche Proteïne der Faktor oft wesentlich niedriger liegt, da sie einen höheren Stickstoffgehalt besitzen.

3. Bestimmung des Amidstickstoffes.

Die Differenz zwischen „Gesamtstickstoff" und „Proteïnstickstoff" wird als Amidstickstoff bezeichnet und gewöhnlich auf keinen besonderen Stoff umgerechnet.

4. Bestimmung des Albumins, der Proteosen und Peptone.

Zunächst werden 5—10 *g* Substanz mit etwa 200 *cm*³ Wasser längere Zeit ausgezogen und schließlich auf 250 *cm*³ aufgefüllt. Darauf wird durch ein trockenes Filter gegeben und das Gelöste von dem Ungelösten getrennt. Die Lösung prüft man zunächst auf Anwesenheit von Albumin, indem man in einem Reagenzglase 5 *cm*³ mit wenig Salpetersäure ansäuert und kocht. Entsteht hierbei ein Niederschlag, so ist Albumin vorhanden.

Zur Bestimmung werden 100 *cm*³ der Lösung in gleicher Weise erhitzt, und das Albumin wird auf einem Filter gesammelt und ausgewaschen. Dieses wird mit Inhalt nach *Kjeldahl* verbrannt, und die gefundene Stickstoffmenge, mit 6·25 multipliziert, ergibt die Menge des koagulierbaren Eiweiß (Albumin).

Zur Bestimmung der Proteosen wird das Filtrat von der Albuminbestimmung mit Schwefelsäure schwach angesäuert und mit Zinksulfat kalt gesättigt. Die hierbei ausgeschiedenen Proteosen werden abfiltriert und mit einer gesättigten Zinksulfatlösung ausgewaschen. Der Filterrückstand wird ebenfalls nach *Kjeldahl* verbrannt und der gefundene Stickstoff ergibt mit 6·25 multipliziert die Proteosen.

Es ist darauf zu achten, daß bei größeren Mengen von Ammoniak sich unlösliche Doppelsalze von Ammonsulfat und Zinksulfat bilden, wodurch das Ergebnis zu hoch wird. Falls dies zu befürchten ist, wird die Zinksulfatfällung zunächst mit Magnesia längere Zeit erhitzt, um das Ammoniak zu entfernen. Oder man wiederholt den Versuch, bestimmt in einer

[1]) Journ. f. Landwirtschaft, Bd. 54, S. 237 (1906).

zweiten Probe das Ammoniak quantitativ und zieht den Ammoniakstickstoff von dem Gesamtstickstoff (Ammoniak- + Proteosenstickstoff) ab.

Die Peptone bleiben hierbei gelöst und die Lösung ist zunächst qualitativ mit Kupfersulfat zu prüfen, ob sie überhaupt vorhanden sind. Ist dies der Fall, so fällt man die Peptone mit einer Phosphorwolframsäurelösung, welche man sich herstellt, indem man 120 *g* Natriumphosphat und 200 *g* Natriumwolframat in 1 *l* Wasser löst und 100 cm^3 Schwefelsäure (1 : 3) zusetzt. Von dieser Lösung setzt man so lange zu, bis kein Niederschlag mehr entsteht und läßt einen Tag bei gewöhnlicher Temperatur stehen. Dann wird filtriert und mit verdünnter Schwefelsäure (1 : 3) nachgewaschen.

Das Filter nebst Rückstand wird wieder nach *Kjeldahl* verbrannt, und durch Multiplizieren des gefundenen Stickstoffes mit 6·25 erhält man die Menge Pepton.

Dies Verfahren gibt aber keine guten Resultate, da auch eine Reihe anderer Stoffe, z. B. Alkaloide, Fleischbasen und Ammoniak, mitgefällt werden. Den Fehler, welcher durch das Ammoniak verursacht wird, kann man, wie vorher bei den Proteosen angegeben worden ist, beseitigen. Eine sichere Trennung von den übrigen Basen ist dagegen bislang nicht möglich.

5. Bestimmung des Ammoniaks.

Qualitativ wird das Ammoniak entweder durch Erwärmen der Substanz mit Kalilauge am Geruch und an der alkalischen Reaktion des Gases erkannt oder mittelst *Nessler*schen Reagens, welches einen rötlichbraunen Niederschlag, bei sehr verdünnten Lösungen aber nur eine gelbe Färbung hervorruft.

Zur quantitativen Bestimmung des Ammoniaks in Flüssigkeiten oder wässerigen Lösungen fester Körper destilliert man mit einem Überschuß von frisch geglühter Magnesia, leitet das Destillat in eine abgemessene Menge Normalsäure und verfährt im übrigen, wie bei der Bestimmung des Gesamtstickstoffes nach *Kjeldahl* angegeben worden ist.

6. Bestimmung der Salpetersäure.

Qualitativ wird die Salpetersäure mittelst Diphenylamin oder Bruzin nachgewiesen. Da Diphenylamin auch mit andern Stoffen, wie salpetriger Säure, Chlorsäure, unterchloriger Säure, Brom-, Jod-, Chromsäure und Ferrisalzen eine Blaufärbung gibt, zieht man Bruzin vor, welches zwar mit Überchlorsäure ebenfalls reagiert, dagegen nicht mit den übrigen, falls genügend Schwefelsäure zugesetzt wird.

In wässerigen Lösungen bestimmt man quantitativ die Salpetersäure nach dem Verfahren von *Schlösing-Wagner* mit der Abänderung von *Schulze-Thiemann*[1], welches darauf beruht, daß Salpetersäure durch

[1]) *Tiemann-Gärtner*, Handbuch der Untersuchung und Beurteilung der Wasser. Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 9. S. 401 (1870).

rauchende Salzsäure und Eisenchlorür in Stickoxyd übergeführt wird. Dieses Verfahren ist stets anwendbar und kommt namentlich dann ausschließlich in Frage, wenn größere Mengen organischen Stickstoffes zugegen sind, welche hierbei nicht stören. Zur Ausführung werden 50—500 *cm*³ Lösung, je nach dem größeren oder geringeren Gehalte an Salpetersäure, in einer Schale auf 20—30 *cm*³ eingedampft und dann durch Einsaugen in ein etwa 150 *cm*³ fassendes, oben durch Glas verschlossenes *Demmer*sches Kölbchen gebracht. Das Kölbchen besitzt einen doppelten Glasansatz in Form von 2 Glasröhren, von denen die eine fast bis auf den Boden des Kölbchens reicht, während die andere am Kopf angeschmolzen ist. Beide Röhrchen sind außen durch ein Kautschukrohrstück mit zwei längeren Glasröhren verbunden und können durch zwei Quetschhähne abgeschlossen werden. Zunächst verdampft man durch Öffnen der Quetschhähne so viel der Flüssigkeit, daß nur noch 20 bis 30 *cm*³ zurückbleiben. Hierauf wird der eine Quetschhahn geschlossen und die kurze Röhre mit einem *Schiff*schen Sammelapparat verbunden, welcher mit frisch ausgekochter, noch warmer 20—30%iger Natronlauge gefüllt ist. Nunmehr wird die Flüssigkeit im Kölbchen nochmals so lange gekocht, bis sich im *Schiff*schen Apparat keine Luftblasen mehr ansammeln. Ist das Wasser in dem Kölbchen bis auf ungefähr 10 *cm*³ eingedampft, so läßt man erkalten. Dann öffnet man vorsichtig den andern Quetschhahn und läßt eine gesättigte, frisch bereitete Lösung von gleichen Teilen Eisenchlorür und rauchender Salzsäure eintreten. Es genügen etwa 10 *cm*³ dieses Gemisches.

Nachdem der Quetschhahn wieder geschlossen ist, wird das Kölbchen zunächst so lange erwärmt, bis der nötige positive Druck im Innern vorhanden ist, dann öffnet man den Quetschhahn zum *Schiff*schen Sammelapparat und treibt in diesen die Stickoxyddämpfe hinüber. Ist die Flüssigkeit bis auf 5 *cm*³ verdampft, so läßt man nach dem Schließen des Quetschhahns wieder erkalten und läßt durch das andere Rohr nochmals ungefähr 5 *cm*³ Eisenchlorürlösung und rauchende Salzsäure eintreten, verfährt wie vorher und treibt noch gebildetes Stickoxyd durch Öffnen des anderen Quetschhahnes wieder in den *Schiff*schen Apparat über.

Mit dem Ablesen des Gasvolums wartet man wenigstens 1 Stunde, damit es die Temperatur der umgebenden Luft annimmt. Vor dem Ablesen wird durch Senken der Flüssigkeit in der Ausgleichsbirne ein gleicher Luftdruck wie außen hergestellt. Das Volumen wird unter Berücksichtigung des Barometerstandes B, der Temperatur T und der Tension des Wasserdampfes t auf trockenes Gas von 0° bei 760 *mm* Barometerstand nach der folgenden Formel umgerechnet. Es bedeutet V^1 das Gasvolumen bei 0° und 760 *mm* Barometerstand, V das abgelesene Volumen bei der Temperatur T, dem Barometerstand B und der Tension t. $V^1 = \frac{V\,(B - t)\,273}{760\,(273 + T)}$

Aus dem reduzierten Gasvolumen berechnet man schließlich die Salpetersäure. 1 *cm*³ Stickoxydgas wiegt bei 0° und 760 *mm* Barometerstand 0·001343 *g*; da zwei Moleküle NO einem Molekül N_2O_5 entsprechen,

so entspricht 1 *cm*³ Stickoxydgas von 0° und 760 *mm* Barometerstand 0·002417 *g* Salpetersäure (N_2O_5).

Einfacher ist das Verfahren von *Ulsch*[1]), welches darauf beruht, daß Salpetersäure sowohl in saurer als auch in alkalischer Lösung leicht zu Ammoniak reduziert werden kann. Am einfachsten arbeitet man in saurer Lösung und reduziert mit dem offizinellen Ferrum hydrogenio reductum des Deutschen Arzneibuches. Die Ausführung geschieht in folgender Weise: In einem Rundkolben von ½ *l* Inhalt mit flachem Boden, wie er z. B. für die Stickstoffbestimmungen nach *Kjeldahl* benutzt wird, bringt man 25 *cm*³ der wässerigen Nitratlösung, welche höchstens 0·5 *g* Kaliumnitrat oder die äquivalente Menge eines anderen salpetersauren Salzes enthalten darf. Man fügt darauf 10 *cm*³ verdünnte Schwefelsäure vom spez. Gew. 1·35 (erhalten durch Mischen von ungefähr 2 Volumen Wasser mit 1 Volumen konzentrierter Schwefelsäure) und 5 *g* des käuflichen Ferrum hydrogenio reductum hinzu. Um Verluste zu vermeiden, hängt man in den Hals des Kolbens ein birnförmiges, oben offenes Glasgefäß von 25 *cm*³ Inhalt oder einen zugeschmolzenen Trichter, der mit kaltem Wasser gefüllt ist.

Durch vorsichtiges Erwärmen mit sehr kleiner Flamme unterhält man eine lebhafte, nicht stürmische Gasentwicklung und steigert die Hitze in dem Maße, wie die Reaktion schwächer wird, so daß etwa 4 Minuten nach Beginn des Erwärmens die Flüssigkeit zu sieden beginnt, was an dem Abtropfen des kondensierten Wassers an der Spitze der Birne zu erkennen ist. Nachdem man ungefähr eine halbe Minute im schwachen Sieden erhalten hat, ist die Reduktion beendet.

Nach dem Erkalten verdünnt man mit 50 *cm*³ Wasser, übersättigt mit 20 *cm*³ Natronlauge vom spez. Gew. 1·35 und destilliert das Ammoniak in gleicher Weise wie bei der Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* ab.

Mit diesen beiden Verfahren kommt man vollständig aus; es wird aber in neuerer Zeit auch das sogenannte Nitronverfahren vielfach angewendet, welches von *M. Busch*[2]) stammt; man benutzt zur Ausführung die von *A. Gutbier*[3]) angegebene Form. Bislang hat aber dieses Verfahren nur wenig Eingang gefunden.

Über eine kolorimetrische Bestimmung kleiner Mengen siehe später.

7. Trennung von Ammoniak, Aminosäuren und Säureamiden.

Die Trennung beruht darauf, daß die Aminosäuren mit salpetriger Säure freien Stickstoff bilden. Die NH_2-Gruppe wird bei dieser Reaktion in die OH-Gruppe verwandelt, und es entsteht z. B. aus Asparaginsäure Äpfelsäure, aus Leuzin Leuzinsäure. Die Säureamide dagegen bilden keinen Stickstoff, sondern die am Karboxyl hängende NH_2-Gruppe

[1]) Chem. Zentralbl. Bd. 2. S. 926 (1890).

[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 9. S. 464 (1905).

[3]) Zeitschr. f. angew. Chemie. Bd. 18. S. 494 (1905).

wird in Ammoniak umgewandelt. Dies gelingt übrigens auch durch einfaches Kochen mit Salzsäure. Die Aminosäureamide geben daher nur eine Gruppe beim Behandeln mit salpetriger Säure in Form von Stickstoff ab.

Zur quantitativen Bestimmung werden die Körper in Wasser oder 30—40%igem Alkohol gelöst. Nach Entfernen des Alkohols durch Eindampfen werden zunächst die Albumine, Proteosen und Peptone mit Phosphorwolframsäure gefällt, und das Filtrat wird zu folgenden Bestimmungen benutzt:

Das Ammoniak wird in einem aliquoten Teil durch Magnesia ausgetrieben und bestimmt.

Ein zweiter Teil der Lösung wird mit etwa 8% konzentrierter Salzsäure zwei Stunden gekocht, worauf man wieder mit Magnesia den Stickstoff bestimmt. Dieser besteht aus Säureamidstickstoff + Ammoniakstickstoff. Zieht man das Ergebnis der Ammoniakbestimmung ab, so erhält man den Säureamidstickstoff.

In einem dritten Quantum bestimmt man den Aminosäurestickstoff, indem man zunächst wieder mit Salzsäure kocht und mit Magnesia zur Trockene verdampft, um den Ammoniak- und Säureamidstickstoff zu entfernen. Der Rückstand wird mit Wasser aufgenommen, filtriert und mit salpetriger Säure behandelt. Der entwickelte Stickstoff wird in einem Eudiometer aufgefangen. Als Absperrflüssigkeit dient gewöhnlich eine konzentrierte alkalische Kaliumpermanganatlösung, um die nitrosen Gase und die Kohlensäure zu entfernen, welche zum Austreiben der Luft durch den Apparat geleitet worden ist. Der gefundene Stickstoff entspricht dem Aminosäurestickstoff.

Bestimmung des Fettes.

Unter Fett versteht man bei der Analyse der Nahrungs- und Genußmittel den Ätherextrakt der wasserfreien Substanz, d. h. alle aus der wasserfreien Substanz durch wasserfreien, über Natrium oder Natriumamalgam destillierten Äther extrahierbaren, bei einstündigem Trocknen im Dampftrockenschrank nichtflüchtigen Bestandteile.

Man bezeichnet daher bei solchen Substanzen, welche außer Fett noch wesentliche Mengen anderer in Äther löslicher Bestandteile enthalten, die erhaltenen Werte auch als „Ätherextrakt".

1. Bestimmung des Gesamtfettes (Ätherextraktes).

Die Bestimmung wird so ausgeführt, daß 5—10 *g* der gemahlenen oder gut gepulverten Substanz bis zur Erschöpfung mit Äther extrahiert werden. Nach beendeter Extraktion wird der Äther aus dem Extraktionskölbchen abdestilliert, der Rückstand eine Stunde im Wasserdampftrockenschrank getrocknet, im Exsikkator erkalten gelassen und gewogen.

Das Ausziehen geschieht in dem bekannten *Soxhlet*schen Extraktionsapparat. Die Masse wird gewöhnlich vorher mit Sand gemischt, in fettfreie Papierhülsen gebracht und im Trockenschrank kurze Zeit getrocknet. Die obere Öffnung der Hülse wird mit Watte verschlossen, die Hülse wird dann in den Apparat gebracht und mit Glaskugeln bedeckt, welche bis zum höchsten Punkt des Hebers reichen sollen. Dies geschieht, um ein Heben des Wattestopfens zu vermeiden, um möglichst oft mit frischem Äther zu extrahieren und um mit möglichst geringen Äthermengen arbeiten zu können. Um ganz sicher zu gehen, daß keine Substanz mitgerissen wird, kann auch die Ablauföffnung am Boden des Apparates noch mit einem Wattefilter verschlossen werden, auf das dann die Hülse zu stehen kommt. Zur vollständigen Erschöpfung genügen gewöhnlich 5 Stunden. Jedenfalls ist es nicht ratsam, das Ausziehen übermäßig lange auszudehnen, da auch andere Stoffe, welche im allgemeinen in Äther so gut wie unlöslich sind, sich in warmem Äther etwas lösen und sich bei der fortgesetzten Extraktion im Destillationskölbchen anhäufen, wodurch die Genauigkeit des Resultates ungünstig beeinflußt wird.

Flüssige Körper werden zunächst auf entfetteter Watte oder fettfreiem Filtrierpapier verteilt, getrocknet und dann ausgezogen.

Sollte eine Reinigung des Ätherauszuges in besonderen Fällen erwünscht sein, so kann man den Rückstand in Petroläther auflösen, filtrieren und das Filtrat wiederholt mit Wasser und schwacher Säure ausschütteln, um organische Säuren, Alkaloide und andere Verunreinigungen zu entfernen.

2. Bestimmung der freien Fettsäuren.

Das gewogene Ätherextrakt oder eine bestimmte Menge des zu untersuchenden Fettes wird entweder in säurefreiem Äther gelöst und mit alkoholischer $^1/_{10}$- oder $^1/_{20}$-Normalkalilauge unter Verwendung von Phenolphtaleïn als Indikator gesättigt, oder es wird in einem säurefreien Gemisch von gleichen Teilen Äther und Alkohol gelöst und mit wässeriger $^1/_{10}$- oder $^1/_{20}$-Normalkalilauge unter Verwendung von Phenolphtaleïn als Indikator gesättigt, wobei man, falls sich die Lösung trübt, gelinde erwärmt.

Die zur Sättigung der freien Fettsäuren verbrauchte Menge Alkalilauge drückt man entweder als Säuregrade aus, worunter man die Anzahl Kubikzentimeter Normalalkalilauge versteht, welche zur Sättigung von 100 *g* Fett erforderlich sind, oder als freie Säure (= Ölsäure) in Prozenten des Fettes (1 *cm*³ Normalalkalilauge entspricht 0·282 g Ölsäure).

Bestimmung der stickstoffreien Extraktstoffe oder Kohlenhydrate.

Unter stickstofffreien Extraktstoffen versteht man den Rest, welcher übrig bleibt, wenn man von einer Substanz ihren Gehalt an Wasser, Stickstoffsubstanz, Ätherextrakt, Rohfaser und Asche abzieht.

Der Begriff stickstoffreie Extraktstoffe umfaßt eine ganze Reihe verschiedener Verbindungen, von denen die wichtigsten und verbreitetsten die Zuckerarten, die Dextrine und die Stärke sind; außerdem gehören hierher: Pflanzengummi, Pflanzenschleime, Pflanzensäuren, ferner die Pektin-, Bitter-, Farbstoffe u. dgl. Gewöhnlich werden die stickstofffreien Extraktstoffe, wie oben angegeben, aus der Differenz berechnet. Vielfach ist jedoch auch die Bestimmung einer oder mehrerer der gut charakterisierten chemischen Verbindungen erforderlich.

1. Bestimmung der Gesamtmenge der wasserlöslichen Kohlenhydrate in festen Körpern.

Zur Bestimmung der löslichen Kohlenhydrate in festen Körpern digeriert man je nach dem Gehalt 10—25 *g* der möglichst fein zerkleinerten Substanz[1]) in einem 500 *cm*³-Kolben mit 250 *cm*³ Wasser etwa eine Stunde lang bei Zimmertemperatur, oder man schüttelt ½ Stunde im Schüttelapparat, füllt bis zur Marke mit kaltem Wasser auf und filtriert nach kurzem Absetzenlassen, falls erforderlich unter Zusatz von indifferenten Klärungsmitteln, durch ein trockenes Falten- oder Asbestfilter.

50 oder 100 *cm*³ des Filtrates befreit man durch Aufkochen und Filtrieren von gelöstem Albumin, dampft in einer Platinschale auf dem Wasserbade zur Trockene, trocknet 2 Stunden im Lufttrockenschranke bei 100—105° C, wiegt, verascht den Inhalt und wiegt wiederum. Der Unterschied beider Wägungen ergibt die Gesamtmenge der wasserlöslichen sickstofffreien Extraktstoffe oder Kohlenhydrate.

Nach dem Verfahren gelingt meist die Entfernung des Albumins nicht vollständig, der Rest ist aber so gering, daß er bei der Bestimmung vernachlässigt werden kann, oder man bestimmt in einem anderen Teile des wässerigen Auszuges den Stickstoff nach *Kjeldahl*. Die Menge der gefundenen Stickstoffsubstanz (N mal 6·25) bringt man von der Gesamtmenge der wasserlöslichen Kohlenhydrate in Abzug.

2. Trennung der in Wasser löslichen Kohlenhydrate.

Die folgenden Verfahren liefern keine genauen, sondern nur annähernde Resultate. Aus dem Grunde ist die gleichmäßige Ausführung dieser Trennungsverfahren erforderlich, damit die Ergebnisse wenigstens unter sich vergleichbar sind.

Die Hauptgruppen bilden die Dextrine- und Zuckerarten, welche zunächst voneinander zu trennen sind.

A. Bestimmung der Dextrine.

Als „Dextrine" bezeichnet man diejenigen in kaltem Wasser löslichen, in 90%igem Alkohol unlöslichen Kohlenhydrate, welche nach der Inversion mit Salzsäure reduzierende Zuckerarten liefern.

Etwa 2·5 *g* Trockensubstanz oder ein entsprechender Teil einer Flüssigkeit oder etwa 200 *cm*³ des nach 1. erhaltenen Auszuges werden in einer

---

[1]) Sehr fettreiche Stoffe sind vorher durch mehrmaliges Übergießen mit wasserfreiem Äther von der Hauptmenge des Fettes zu befreien.

Porzellanschale auf dem Wasserbade fast bis zur Trockene eingedampft.[1]) Der Rückstand wird in 10 oder 20 *cm*³ warmen Wassers gelöst und die Lösung unter fortwährendem Umrühren allmählich mit 100 bzw. 200 *cm*³ Alkohol von 95 Vol.-Proz. versetzt. Nachdem der Niederschlag, welcher die Dextrine enthält, sich abgesetzt hat, filtriert man und wäscht den Rückstand unter Reiben mit einem Pistill mehrmals mit kleinen Mengen Alkohol (hergestellt durch Vermischen von 1 Vol. Wasser mit 10 Vol. Alkohol von 95 Vol.-Proz.) aus. Der Rückstand wird in Wasser gelöst, eingedampft, abermals in 10 *cm*³ Wasser gelöst und in gleicher Weise nochmals mit Alkohol gefällt.

Es empfiehlt sich, auch das alkoholische Filtrat einzudampfen, den Rückstand in 10 *cm*³ Wasser zu lösen und nochmals mit Alkohol zu fällen.

Die vereinigten alkoholischen Filtrate werden durch vorsichtiges Erwärmen auf dem Wasserbade von Alkohol befreit und zur Bestimmung der Zuckerarten auf ein bestimmtes Volumen gebracht.

Der Filterrückstand enthält die Dextrine. Man löst sie in heißem Wasser, führt sie in Dextrose über und bestimmt diese maßanalytisch nach *Fr. Soxhlet* oder gewichtsanalytisch nach *F. Allihn*.

Zur Inversion löst man die Dextrine in 300 *cm*³ Wasser und bringt je 100 *cm*³ in Kölbchen von 200 *cm*³ Inhalt, fügt etwa 70 *cm*³ Wasser und 20 *cm*³ Salzsäure vom spez. Gew. 1·125 hinzu und erwärmt die erste Lösung 1 Stunde, die zweite 2, die dritte 3 Stunden lang im kochenden Wasserbade am Rückflußkühler. Die Lösungen werden rasch abgekühlt, mit Natronlauge neutralisiert oder bis zur schwachsauren Reaktion versetzt und so weit verdünnt, daß sie höchstens 1% Dextrose enthalten. In 25 *cm*³ jeder Lösung wird die Dextrose bestimmt. Das höchste Resultat wird als das richtige angenommen. Die gefundene Menge wird durch Multiplikation mit 0·90 auf Dextrine umgerechnet.

B. Bestimmung der Zuckerarten.

Die nach Fällung der Dextrine verbliebene alkoholische Lösung dient zur Bestimmung der Zuckerarten und darf hierfür nicht mehr als höchstens 1% Zucker enthalten.

Allgemeines.

Quantitativ wird Zucker entweder auf chemischem Wege gewichtsanalytisch nach *Allihn* oder maßanalytisch nach *Soxhlet* oder auf optischem Wege durch Polarisation bestimmt.

Außerdem wird noch die Eigenschaft der Kohlenhydrate, von der Formel $C_6H_{10}O_5$, $C_5H_8O_4$ und $C_{12}H_{22}O_{11}$ unter dem Einfluß von Säuren durch Hydrolyse in solche von der Formel $C_6H_{12}O_6$ und $C_5H_{10}O_5$ überzugehen, benutzt, um den Zucker nach der Inversion sowohl durch Polarisation als auch mit *Fehling*scher Lösung zu bestimmen. Verhältnismäßig einfach sind die optischen Verfahren; schwieriger aber findet man sich zwischen den Fällungsverfahren mit *Fehling*scher Lösung zurecht, da diese

[1]) Enthält die Lösung freie Säuren, so ist vorher mit Natriumkarbonat zu neutralysieren.

vielfach in verschiedener Konzentration und Zusammensetzung verwendet wird. Jede Änderung sowohl der Konzentration als auch der Kochdauer führt aber zu anderen Ergebnissen, und man hat deshalb bei Zuckeruntersuchungen die angegebenen Arbeitsvorschriften genau zu befolgen. Stärke, Dextrine und Rohrzucker reagieren zwar theoretisch mit *Fehling*scher Lösung nicht, aber beim Kochen mit dieser werden sie als Laktone umgewandelt, so daß sie ebenfalls schwach reduzierend wirken.

Glukose, Lävulose, Invertzucker und Arabinose reduzieren *Fehling*sche Lösung, Maltose und Milchzucker reduzieren sie zwar auch, aber in geringerem Grade als nach der Behandlung mit Säuren. Mit Säuren geht Milchzucker in ein Gemenge von gleichen Teilen Galaktose und Glukose, Maltose in Glukose über.

Man kann daher durch Bestimmung des Reduktionsvermögens vor und nach der Inversion für Maltose und Glukose die Konstanten gewinnen, um sie nebeneinander quantitativ zu bestimmen. Dieses Verfahren versagt, wenn zugleich Saccharose zugegen ist, weil der beim Invertieren gebildete Invertzucker, insbesondere die Lävulose, durch die Säure wieder zerstört wird, wenn sie so lange einwirkt, bis die Maltose oder der Milchzucker völlig hydrolysiert sind.

Wegen dieser leichten Zersetzbarkeit der Lävulose ist auch bei dem Inversionsverfahren nach *Clerget-Herzfeld* die Konzentration der Salzsäure und die Inversionstemperatur niedrig gewählt worden, damit die Lävulose nicht angegriffen wird. Nach dem Verfahren von *Clerget* wird das Drehungsvermögen des Milchzuckers und des käuflichen Stärkezuckers noch nicht wesentlich verändert. Man kann daher auf diese Weise Rohrzucker neben Milchzucker oder käuflichem Stärkezucker bestimmen. Das Verfahren versagt aber wieder, falls auch Raffinose zugegen ist, da Raffinose auch durch schwache Säuren ihre Drehung ändert. Für den Fall, daß von optisch aktiven Zuckerarten nur Saccharose und Raffinose zugegen sind, haben *Tollens* und *Herzfeld* eine Inversionsvorschrift angegeben, welche in den Ausführungsbestimmungen zum Deutschen Zuckersteuergesetz beschrieben wird. Außerdem ist von *Baumann*[1] noch ein Verfahren ausgearbeitet worden, um Rohrzucker und Raffinose neben größeren Mengen von Invertzucker zu bestimmen, welches darauf beruht, daß man das optische Inversionsverfahren mit dem chemischen Reduktionsverfahren mittelst *Fehling*scher Lösung vereinigt und so drei Konstante gewinnt, mit deren Hilfe sich die Menge der Zuckerarten berechnen läßt.

a) Maßanalytische Verfahren.

Das maßanalytische Verfahren nach *Soxhlet*[2] wird folgendermaßen ausgeführt: Zunächst stellt man sich eine Kupfersulfatlösung her, indem man chemisch reines Kupfersulfat aus verdünnter Salpetersäure und darauf dreimal aus Wasser umkristallisiert. Die Kristalle werden zwischen Fließpapier getrocknet und etwa 12 Stunden an der Luft liegen gelassen

[1]) Zeitschr. d. Verb. der deutschen Zuckerindustr. S. 779 (1898).
[2]) Journ. f. prakt. Chem. (N. F.) Bd. 21. S. 227 (1880).

damit sie lufttrocken werden. Hiervon werden 34.630 *g* zu 500 *cm*³ Wasser gelöst. Die Seignettesalzlösung bereitet man in der Weise, daß man 173 *g* weinsaures Natriumkalium in Wasser zu 400 *cm*³ löst und 100 *cm*³ einer Natronlauge zufügt, welche 516 *g* Natriumhydroxyd im Liter enthält.

Durch Vermischen gleicher Volumen Kupfer- und Seignettesalzlösung, welche getrennt aufbewahrt und erst beim Gebrauch vermischt werden, erhält man die *Fehling*sche Lösung.

Zunächst ist es erforderlich, zu prüfen, wieviel Zucker die fragliche Lösung ungefähr enthält. Dazu werden 50 *cm*³ *Fehling*scher Lösung mit soviel Zuckerlösung versetzt, daß nach der vorgeschriebenen Kochdauer völlige Entfärbung eintritt. Die Kochdauer beträgt für Glukose, Invertzucker und Fruktose 2 Minuten, für Maltose 4 und für Laktose 6 Minuten. Hat man so den ungefähren Gehalt gefunden, so wird durch Verdünnen und Eindampfen eine etwa 1%ige Zuckerlösung bereitet. Dann wird wieder zu 50 *cm*³ *Fehling*scher Lösung soviel Zuckerlösung zugegeben, daß jene nach der entsprechenden Kochdauer fast farblos, jedenfalls nicht mehr blau ist. Um zu prüfen, ob noch unzersetztes Kupfer vorhanden ist, wird durch ein doppeltes Filter filtriert, das Filtrat mit Essigsäure angesäuert und mit einem Tropfen Ferrocyankalium versetzt. Rosafärbung zeigt geringe, Rotfärbung größere Kupfermengen an. Bleibt die Lösung farblos, so ist schon zu viel von der Zuckerlösung zugesetzt worden. Die Titration wird nun so oft wiederholt, bis von 2 Zusätzen, welche um 0·1 *cm*³ Zuckerlösung verschieden sind, der eine noch kupferhaltiges, der andere kupferfreies Filtrat ergibt. Die richtige Menge liegt dann in der Mitte, und sie enthält so viel Zucker, wie imstande ist, 50 *cm*³ *Fehling*scher Lösung vollständig zu reduzieren. Nach *Soxhlet* entsprechen:

50 *cm*³ *Fehling*scher Lösung = 0·2365 Glukose, = 0·3890 Maltose,
= 0·2470 Invertzucker, = 0·3380 kryst. Laktose,
= 0·2572 Fruktose,

Vielfach wird auch das Verfahren von *Reischauer* angewendet, bei dem man sich des sogenannten *Reischauer*schen Sternes bedient. In je 6 dünnwandige, weite Reagenzgläser bringt man genau 5 *cm*³ Zuckerlösung, welche für diese Bestimmung aber nicht mehr als 0·5 *g* Zucker in 100 Teilen enthalten darf. In die einzelnen Gläser fügt man dann 1, 2, 3, 4, 5 und in das letzte 6 *cm*³ der *Fehling*schen Lösung und setzt den Stern mit den Reagenzgläsern 20 Minuten lang in ein kochendes Wasserbad. Nach dem Herausnehmen erkennt man schon an der überstehenden Flüssigkeit, in welchem Röhrchen noch Kupfer im Überschuß vorhanden ist und nimmt das letzte, gewöhnlich gelb gefärbte Röhrchen heraus und filtriert. Das Filtrat wird mit Ferrocyankalium auf Kupfer geprüft. Enthält z. B. Röhrchen Nr. 4 kein Kupfer, wohl aber Nr. 5, so wiederholt man den Versuch, indem man in die Röhrchen 4·15, 4·30, 4·45 usw. *cm*³ *Fehling*scher Lösung gibt und nun wieder diejenigen aufeinanderfolgenden Gläschen aussucht, von denen das eine noch Kupfer enthält, das andere nicht. Dies Verfahren wird innerhalb der gefundenen Grenzen schließlich nochmals wiederholt. Die Berechnung erfolgt nach folgenden Tabellen:

Tabelle

zur Bestimmung der Dextrose nach Reischauer, berechnet von K. Kruis.

*cm*³ *Fehling*-sche Lösung	*mg* Dextrose	*cm*³ *Fehling*-sche Lösung	*mg* Dextrose	*cm*³ *Fehling*-sche Lösung	*mg* Dextrose	*cm*³ *Fehling*-sche Lösung	*mg* Dextrose
1·00	5·57	1·42	7·68	1·84	9·63	2·26	11·55
1·01	5·64	1·43	7·73	1·85	9·68	2·27	11·60
1·02	5·81	1·44	7·77	1·86	9·72	2·28	11·64
1·03	5·85	1·45	7·82	1·87	9·77	2·29	11·69
1·04	5·90	1·46	7·87	1·88	9·81	2·30	11·73
1·05	5·94	1·47	7·92	1·89	9·86	2·31	11·78
1·06	5·99	1·48	7·96	1·90	9·91	2·32	11·82
1·07	6·04	1·49	8·01	1·91	9·95	2·33	11·87
1·08	6·08	1·50	8·06	1·92	10·00	2·34	11·92
1·09	6·13	1·51	8·10	1·93	10·04	2·35	11·96
1·10	6·18	1·52	8·15	1·94	10·09	2·36	12·00
1·11	6·22	1·53	8·20	1·95	10·13	2·37	12·05
1·12	6·27	1·54	8·24	1·96	10·18	2·38	12·10
1·13	6·32	1·55	8·29	1·97	10·23	2·39	12·14
1·14	6·36	1·56	8·34	1·98	10·27	2·40	12·19
1·15	6·41	1·57	8·38	1·99	10·32	2·41	12·24
1·16	6·46	1·58	8·43	2·00	10·36	2·42	12·28
1·17	6·51	1·59	8·48	2·01	10·41	2·43	12·33
1·18	6·55	1·60	8·52	2·02	10·45	2·44	12·37
1·19	6·60	1·61	8·57	2·03	10·50	2·45	12·42
1·20	6·65	1·62	8·62	2·04	10·55	2·46	12·47
1·21	6·69	1·63	8·66	2·05	10·59	2·47	12·51
1·22	6·74	1·64	8·71	2·06	10·64	2·48	12·56
1·23	6·79	1·65	8·76	2·07	10·68	2·49	12·60
1·24	6·84	1·66	8·80	2·08	10·73	2·50	12·65
1·25	6·88	1·67	8·85	2·09	10·77	2·51	12·69
1·26	6·93	1·68	8·89	2·10	10·82	2·52	12·74
1·27	6·98	1·69	8·94	2·11	10·87	2·53	12·79
1·28	7·02	1·70	8·99	2·12	10·91	2·54	12·83
1·29	7·07	1·71	9·03	2·13	10·96	2·55	12·88
1·30	7·12	1·72	9·08	2·14	11·00	2·56	12·92
1·31	7·17	1·73	9·13	2·15	11·04	2·57	12·97
1·32	7·21	1·74	9·17	2·16	11·09	2·58	13·02
1·33	7·26	1·75	9·22	2·17	11·14	2·59	13·06
1·34	7·31	1·76	9·26	2·18	11·18	2·60	13·11
1·35	7·35	1·77	9·31	2·19	11·23	2·61	13·16
1·36	7·40	1·78	9·36	2·20	11·28	2·62	13·20
1·37	7·45	1·79	9·40	2·21	11·32	2·63	13·25
1·38	7·49	1·80	9·45	2·22	11·37	2·64	13·29
1·39	7·54	1·81	9·49	2·23	11·41	2·65	13·34
1·40	7·59	1·82	9·54	2·24	11·46	2·66	13·39
1·41	7·64	1·83	9·59	2·25	11·50	2·67	13·43

*cm*³ *Fehling*-sche Lösung	*mg* Dextrose	*cm*³ *Fehling*-sche Lösung	*mg* Dextrose	*cm*³ *Fehling*-sche Lösung	*mg* Dextrose	*cm*³ *Fehling*-sche Lösung	*mg* Dextrose
2·68	13·48	3·12	15·50	3·56	17·53	4·00	19·57
2·69	13·52	3·13	15·55	3·57	17·58	4·01	19·62
2·70	13·57	3·14	15·60	3·58	17·62	4·02	19·67
2·71	13·62	3·15	15·64	3·59	17·67	4·03	19·71
2·72	13·66	3·16	15·69	3·60	17·72	4·04	19·76
2·73	13·71	3·17	15·73	3·61	17·76	4·05	19·80
2·74	13·76	3·18	15·78	3·62	17·81	4·06	19·85
2·75	13·80	3·19	15·83	3·63	17·86	4·07	19·90
2·76	13·85	3·20	15·87	3·64	17·90	4·08	19·95
2·77	13·89	3·21	15·92	3·65	17·95	4·09	19·99
2·78	13·94	3·22	15·96	3·66	17·99	4·10	20·04
2·79	13·99	3·23	16·01	3·67	18·04	4·11	20·09
2·80	14·03	3·24	16·06	3·68	18·09	4·12	20·13
2·81	14·08	3·25	16·10	3·69	18·13	4·13	20·18
2·82	14·12	3·26	16·15	3·70	18·18	4·14	20·23
2·83	14·17	3·27	16·19	3·71	18·23	4·15	20·27
2·84	14·22	3·28	16·24	3·72	18·27	4·16	20·32
2·85	14·26	3·29	16·29	3·73	18·32	4·17	20·37
2·86	14·31	3·30	16·33	3·74	18·37	4·18	20·41
2·87	14·35	3·31	16·38	3·75	18·41	4·19	20·46
2·88	14·40	3·32	16·43	3·76	18·46	4·20	20·51
2·89	14·45	3·33	16·47	3·77	18·50	4·21	20·55
2·90	14·49	3·34	16·52	3·78	18·55	4·22	20·60
2·91	14·54	3·35	16·56	3·79	18·60	4·23	20·65
2·92	14·58	3·36	16·61	3·80	18·64	4·24	20·69
2·93	14·63	3·37	16·66	3·81	18·69	4·25	20·74
2·94	14·68	3·38	16·70	3·82	18·73	3·26	20·79
2·95	14·72	2·39	16·75	3·83	18·78	4·27	20·83
2·96	14·77	3·40	16·79	3·84	18·83	4·28	20·88
2·97	14·81	3·41	16:84	3·85	18·88	4·29	20·93
2·98	14·86	3·42	17·89	3·86	18·92	4·30	20·98
2·99	14·91	3·43	16·93	3·87	18·97	4·31	21·02
3·00	14·95	3·44	16·98	3·88	19·02	4·32	21·07
3·01	15·00	3·45	17·02	3·89	19·06	4·33	21·12
3·02	15·04	3·46	17·07	3·90	19·11	4·34	21·16
3·03	15·09	3·47	17·12	3·91	19·15	4·35	21·21
3·04	15·14	3·48	17·16	3·92	19·20	4·36	21·26
3·05	15·18	3·49	17·21	3·93	19·25	4·37	21·30
3·06	15·23	3·50	17·26	3·94	19·29	4·38	21·35
3·07	15·27	3·51	17·30	3·95	19·34	4·39	21·40
3·08	15·32	3·52	17·35	3·96	19·39	4·40	21·44
3·09	15·37	3·53	17·39	3·97	19:43	4·41	21·49
3·10	15·41	3·54	17·44	3·98	19·48	4·42	21·54
3·11	15·46	3·55	17·49	3·99	19·53	4·43	21·58

cm^3 *Fehling*-sche Lösung	*mg* Dextrose	cm^3 *Fehling*-sche Lösung	*mg* Dextrose	cm^3 *Fehling*-sche Lösung	*mg* Dextrose	cm^3 *Fehling*-sche Lösung	*mg* Dextrose
4·44	21·63	4·84	23·51	5·23	25·34	5·62	27·19
4·45	21·68	4·85	23·56	5·24	25·39	5·63	27·23
4·46	21·73	4·86	23·60	5·25	25·44	5·64	27·28
4·47	21·77	4·87	23·65	5·26	25·49	5·65	27·32
4·48	21·82	4·88	23·70	5·27	25·53	5·66	27·37
4·49	21·87	4·89	23·74	5·28	25·58	5·67	27·42
4·50	21·91	4·90	23·79	5·29	25·63	5·68	27·47
4·51	21·96	4·91	23·84	5·30	25·68	5·69	27·51
4·52	22·01	4·92	23·89	5·31	25·72	5·70	27·56
4·53	22·05	4·93	23·93	5·32	25·77	5·71	27·61
4·54	22·10	4·94	23·98	5·33	25·82	5·72	27·65
4·55	22·14	4·95	24·03	5·34	25·86	5·73	27·70
4·56	22·19	4·96	24·07	5·35	25·91	5·74	27·75
4·57	22·24	4·97	24·12	5·36	25·96	5·75	27·80
4·58	22·29	4·98	24·17	5·37	26·00	5·76	27·84
4·59	22·34	4·99	24·22	5·38	26·05	5·77	27·89
4·60	22·38	5·00	24·26	5·39	26·10	5·78	27·90
4·61	22·43	5·01	24·31	5·40	26·15	5·79	27·98
4·62	22·48	5·02	24·36	5·41	26·19	5·80	28·03
4·63	22·52	5·03	24·40	5·42	26·24	5·81	28·08
4·64	22·57	5·04	24·45	5·43	26·29	5·82	28·13
4·65	22·62	5·05	24·50	5·44	26·34	5·83	28·17
4·66	22·66	5·06	24·55	5·45	26·38	5·84	28·22
4·67	22·71	5·07	24·59	5·46	26·43	5·85	28·26
4·68	22·76	5·08	24·64	5·47	26·48	5·86	28·31
4·69	22·80	5·09	24·69	5·48	26·52	5·87	28·36
4·70	22·85	5·10	24·73	5·49	26·57	5·88	28·41
4·71	22·90	5·11	24·78	5·50	26·62	5·89	28·46
4·72	22·94	5·12	24·83	5·51	26·66	5·90	28·50
4·73	22·99	5·13	24·88	5·52	26·72	5·91	28·55
4·74	23·04	5·14	24·92	5·53	26·76	5·92	28·60
4·75	23·09	5·15	24·97	5·54	26·81	5·93	28·64
4·76	23·13	5·16	25·02	5·55	26·85	5·94	28·69
4·77	23·18	5·17	25·06	5·56	26·90	5·95	28·74
4·78	23·23	5·18	25·11	5·57	26·95	5·96	28·79
4·79	23·28	5·19	25·16	5·58	26·99	5·97	28·83
4·80	23·32	5·20	25·20	5·59	27·04	5·98	28·88
4·81	23·37	5·21	25·25	5·60	27·09	5·99	28·93
4·82	23·42	5·22	25·30	5·61	27·14	6·00	28·97
4·83	23·46						

Die Bestimmung der Maltose nach *Reischauer* erfolgt ebenso, wie die der Dextrose, jedoch wird der Stern nur 15 Minuten in das kochende Wasserbad gesetzt. Die Zuckerlösung muß so verdünnt sein, daß sie zwischen 0·15 und 0·88 *g* Maltose in 100 cm^3 enthält.

Tabelle

zur Bestimmung der Maltose nach Reischauer, berechnet von E. Wein.

cm^3 *Fehling*-sche Lösung	*mg* Maltose	cm^3 *Fehling*-sche Lösung	*mg* Maltose	cm^3 *Fehling*-sche Lösung	*mg* Maltose	cm^3 *Fehling*-sche Lösung	*mg* Maltose
1·00	7·26	1·42	10·28	1·84	13·29	2·26	16·36
1·01	7·33	1·43	10·35	1·85	13·36	2·27	16·43
1·02	7·41	1·44	10·42	1·86	13·44	2·28	16·50
1·03	7·48	1·45	10·49	1·87	13·51	2·29	16·58
1·04	7·55	1·46	10·57	1·88	13·58	2·30	16·65
1·05	7·62	1·47	10·64	1·89	13·66	2·31	16·72
1·06	7·70	1·48	10·71	1·90	13·73	2·32	16·80
1·07	7·77	1·49	10·78	1·91	13·80	2·33	16·87
1·08	7·84	1·50	10·85	1·92	13·88	2·34	16·94
1·09	7·92	1·51	10·92	1·93	13·95	2·35	17·01
1·10	7·99	1·52	10·99	1·94	14·02	2·36	17·09
1·11	8·06	1·53	11·07	1·95	14·09	2·37	17·16
1·12	8·13	1·54	11·14	1·96	14·17	2·38	17·23
1·13	8·21	1·55	11·21	1·97	14·24	2·39	17·31
1·14	8·28	1·56	11·28	1·98	14·31	2·40	17·38
1·15	8·35	1·57	11·35	1·99	14·39	2·41	17·45
1·16	8·42	1·58	11·43	2·00	14·46	2·42	17·53
1·17	8·49	1·59	11·50	2·01	14·53	2·43	17·60
1·18	8·57	1·60	11·57	2·02	14·61	2·44	17·67
1·19	8·64	1·61	11·64	2·03	14·68	2·45	17·74
1·20	8·71	1·62	11·71	2·04	14·75	2·46	17·82
1·21	8·78	1·63	11·78	2·05	14·82	2·47	17·89
1·22	8·85	1·64	11·85	2·06	14·90	2·48	17·96
1·23	8·92	1·65	11·92	2·07	14·97	2·49	18·04
1·24	8·99	1·66	12·00	2·08	15·04	2·50	18·11
1·25	9·06	1·67	12·07	2·09	15·12	2·51	18·18
1·26	9·14	1·68	12·14	2·10	15·19	2·52	18·26
1·27	9·21	1·69	12·21	2·11	15·26	2·53	18·33
1·28	9·28	1·70	12·28	2·12	15·34	2·54	18·40
1·29	9·35	1·71	12·35	2·13	15·41	2·55	18·47
1·30	9·42	1·72	12·42	2·14	15·48	2·56	18·55
1·31	9·49	1·73	12·50	2·15	15·55	2·57	18·62
1·32	9·56	1·74	12·57	2·16	15·63	2·58	18·69
1·33	9·64	1·75	12·64	2·17	15·70	2·59	18·77
1·34	9·71	1·76	12·71	2·18	15·77	2·60	18·84
1·35	9·78	1·77	12·78	2·19	15·85	2·61	18·91
1·36	9·85	1·78	12·86	2·20	15·92	2·62	18·99
1·37	9·92	1·79	12·93	2·21	15·99	2·63	19·06
1·38	10·00	1·80	13·00	2·22	16·07	2·64	19·14
1·39	10·07	1·81	13·07	2·23	16·14	2·65	19·21
1·40	10·14	1·82	13·15	2·24	16·21	2·66	19·29
1·41	10·21	1·83	13·22	2·25	16·28	2·67	19·36

cm^3 *Fehling*-sche Lösung	*mg* Maltose	cm^3 *Fehling*-sche Lösung	*mg* Maltose	cm^3 *Fehling*-sche Lösung	*mg* Maltose	cm^3 *Fehling*-sche Lösung	*mg* Maltose
2·68	19·44	3·12	22·73	3·56	26·02	4·00	29·32
2·69	19·51	3·13	22·80	3·57	26·09	4·01	29·39
2·70	19·59	3·14	22·88	3·58	26·17	4·02	29·47
2·71	19·66	3·15	22·95	3·59	26·24	4·03	29·54
2·72	19·74	3·16	23·03	3·60	26·32	4·04	29·62
2·73	19·81	3·17	23·10	3·61	26·39	4·05	29·69
2·74	19·89	3·18	23·18	3·62	26·47	4·06	29·77
2·75	19·96	3·19	23·25	3·63	26·54	4·07	29·84
2·76	20·04	3·20	23·33	3·64	26·62	4·08	29·92
2·77	20·11	3·21	23·40	3·65	26·69	4·09	29·99
2·78	20·19	3·22	23·48	3·66	26·77	4·10	30·07
2·79	20·26	3·23	23·55	3·67	26·84	4·11	30·14
2·80	20·34	3·24	23·63	3·68	26·92	4·12	30·22
2·81	20·41	3·25	23·70	3·69	26·99	4·13	30·29
2·82	20·49	3·26	23·78	3·70	27·07	4·14	30·37
2·83	20·56	3·27	23·85	3·71	27·14	4·15	30·44
2·84	20·64	3·28	23·93	3·72	27·22	4·16	30·52
2·85	20·71	3·29	24·00	3·73	27·29	4·17	30·59
2·86	20·78	3·30	24·08	3·74	27·37	4·18	30·67
2·87	20·86	3·31	24·15	3·75	27·44	4·19	30·74
2·88	20·93	3·32	24·23	3·76	27·52	4·20	30·82
2·89	21·01	3·33	24·30	3·77	27·59	4·21	30·89
2·90	21·08	3·34	24·38	3·78	27·67	4·22	30·97
2·91	21·15	3·35	24·45	3·79	27·74	4·23	31·04
2·92	21·23	3·36	24·52	3·80	27·82	4·24	31·12
2·93	21·30	3·37	24·60	3·81	27·89	4·25	31·19
2·94	21·38	3·38	24·67	3·82	27·97	4·26	31·27
2·95	21·45	3·39	24·75	3·83	28·04	4·27	31·34
2·96	21·53	3·40	24·82	3·84	28·12	4·28	31·42
2·97	21·60	3·41	24·89	3·85	28·19	4·29	31·49
2·98	21·68	3·42	24·97	3·86	28·27	4·30	31·57
2·99	21·75	3·43	25·04	3·87	28·34	4·31	31·64
3·00	21·83	3·44	25·12	3·88	28·42	4·32	31·72
3·01	21·90	3·45	25·19	3·89	28·49	4·33	31·79
3·02	21·98	3·46	25·27	3·90	28·57	4·34	31·87
3·03	22·05	3·47	25·34	3·91	28·64	4·35	31·94
3·04	22·13	3·48	25·42	3·92	28·72	4·36	32·02
3·05	22·20	3·49	25·49	3·93	28·79	4·37	32·09
3·06	22·28	3·50	25·57	3·94	28·87	4·38	32·17
3·07	22·35	3·51	25·64	3·95	28·94	4·39	32·24
3·08	22·43	3·52	25·72	3·96	29·02	4·40	32·32
3·09	22·50	3·53	25·79	3·97	29·09	4·41	32·39
3·10	22·58	3·54	25·87	3·98	29·17	4·42	32·47
3·11	22·65	3·55	25·94	3·99	29·25	4·43	32·54

cm³ *Fehling*-sche Lösung	*mg* Maltose	*cm³* *Fehling*-sche Lösung	*mg* Maltose	*cm³* *Fehling*-sche Lösung	*mg* Maltose	*cm³* *Fehling*-sche Lösung	*mg* Maltose
4·44	32·62	4·84	35·62	5·23	38·48	5·62	41·17
4·45	32·69	4·85	35·69	5·24	38·55	5·63	41·24
4·46	32·77	4·86	35·77	5·25	38·61	5·64	41·31
4·47	32·84	4·87	35·84	5·26	38·68	5·65	41·37
4·48	32·92	4·88	35·92	5·27	38·75	5·66	41·44
4·49	32·99	4·89	35·99	5·28	38·82	5·67	41·51
4·50	33·07	4·90	36·07	5·29	38·89	5·68	41·58
4·51	33·14	4·91	36·14	5·30	38·96	5·69	41·65
4·52	33·22	4·92	36·22	5·31	39·03	5·70	41·72
4·53	33·29	4·93	36·29	5·32	39·10	5·71	41·81
4·54	33·37	4·94	36·37	5·33	39·17	5·72	41·90
4·55	33·44	4·95	36·44	5·34	39·24	5·73	41·98
4·56	33·52	4·96	36·52	5·35	39·30	5·74	42·07
4·57	33·59	4·97	36·59	5·36	39·37	5·75	42·16
4·58	33·67	4·98	36·67	5·37	39·44	5·76	42·25
4·59	33·74	4·99	36·74	5·38	39·51	5·77	42·34
4·60	33·82	5·00	36·82	5·39	39·58	5·78	42·42
4·61	33·89	5·01	36·89	5·40	39·65	5·79	42·51
4·62	33·97	5·02	36·97	5·41	39·72	5·80	42·60
4·63	34·04	5·03	37·04	5·42	39·79	5·81	42·69
4·64	34·12	5·04	37·12	5·43	39·86	5·82	42·78
4·65	34·19	5·05	37·19	5·44	39·93	5·83	42·86
4·66	34·27	5·06	37·27	5·45	39·99	5·84	42·95
4·67	34·34	5·07	37·34	5·46	40·06	5·85	43·04
4·68	34·42	5·08	37·42	5·47	40·13	5·86	43·13
4·69	34·49	5·09	37·49	5·48	40·20	5·87	43·22
4·70	34·57	5·10	37·57	5·49	40·27	5·88	43·30
4·71	34·64	5·11	37·64	5·50	40·34	5·89	43·39
4·72	34·72	5·12	37·71	5·51	40·41	5·90	43·48
4·73	34·79	5·13	37·78	5·52	40·48	5·91	43·57
4·74	34·87	5·14	37·85	5·53	40·55	5·92	43·66
4·75	34·94	5·15	37·92	5·54	40·62	5·93	43·74
4·76	35·02	5·16	37·99	5·55	40·68	5·94	43·83
4·77	35·09	5·17	38·06	5·56	40·75	5·95	43·92
4·78	35·17	5·18	38·13	5·57	40·82	5·96	44·01
4·79	35·24	5·19	38·20	5·58	40·89	5·97	44·10
4·80	35·32	5·20	38·27	5·59	40·96	5·98	44·18
4·81	35·39	5·21	38·34	5·60	41·03	5·99	44·27
4·82	35·47	5·22	38·41	5·61	41·10	6·00	44·36
4·83	35·54						

b) Gewichtsanalytische Verfahren.

Die gewichtsanalytische Bestimmung nach *Allihn*[1]) ist die gebräuchlichste. Es sind für die verschiedenen Zuckerarten Lösungen von

[1]) Journ. f. prakt. Chem. (N. F.) Bd. **22**. S. 46 (1880).

bestimmtem Gehalt und bestimmte Mengen erforderlich. Ferner ist eine bestimmte Kochdauer und Arbeitsweise einzuhalten und zur Berechnung des Zuckers sind besondere Tabellen (von *Wein*[1]) zu benutzen. Nach *Allihn* wird mit einem Überschuß von *Fehling*scher Lösung gearbeitet und das reduzierte Kupfer wird abfiltriert, gewaschen und gewogen.

Zum Filtrieren bedient man sich eines sogenannten *Allihn*schen Röhrchens; ein gewöhnliches Papierfilter ist nicht brauchbar, weil der Kupferoxydulniederschlag oft so fein ist, daß kleine Mengen hindurchgehen und weil ein vollständiges Auswaschen der Papierfilter nicht gelingt.

Als Trichter dient eine Verbrennungsröhre von etwa 15 *mm* lichter Weite, welche 7—8 *cm* vom Ende auf ein Drittel ihrer Stärke ausgezogen worden ist. Man schneidet den zusammengefallenen Teil durch, läßt aber noch 2—3 *cm* des verjüngten Teiles an der weiten Röhre sitzen. Als Filtermasse benutzt man weißen, langfaserigen Asbest, welchen man mehrmals mit starker Kalilauge auskocht und mit Wasser gut auswäscht, schließlich wird mit Salpetersäure ausgekocht und wieder mit Wasser gut nachgewaschen. Dann wird der Asbest ausgeglüht. In das Röhrchen bringt man zunächst einen kleinen Platinkonus und darauf eine dicke Lage von gereinigtem Asbest, der mäßig festgestopft wird. Die Asbestmasse soll etwa ein Drittel des Röhrchens einnehmen. Die Art des Stopfens ist das Wichtigste bei der Herrichtung des Filters; wenn die Asbestlage zu dicht ist, so läuft die Flüssigkeit, auch bei Anwendung der Saugpumpe, zu langsam durch, manchmal sogar gar nicht. Da das Kupferoxydul schnell von der *Fehling*schen Lösung getrennt werden muß, weil es sich beim Erkalten zum Teil wieder auflöst, so würde man bei zu langsamem Filtrieren unrichtige Resultate erhalten.

Ist das Filter ordnungsgemäß hergerichtet, so wäscht man es unter Anwendung der Saugpumpe mit heißem Wasser aus, bis im Filtrat keine Asbestfäserchen mehr erscheinen. Dann verdrängt man das Wasser mit Alkohol, den Alkohol schließlich mit Äther, verbindet den verjüngten Teil mit einer Saugpumpe und saugt langsam Luft hindurch. Ist der Äther verdunstet, so erwärmt man allmählich den Teil des Röhrchens, welcher mit Asbest gefüllt ist, mit einem Bunsenbrenner und glüht schließlich gut aus. Man läßt im Exsikkator erkalten und wiegt. Zum Filtrieren setzt man das Röhrchen auf eine Saugflasche, indem man den verjüngten Teil in einen durchbohrten Gummistopfen steckt. Auf das weite Ende setzt man ein kleines Trichterchen und gießt zunächst von der kochend heißen Flüssigkeit so viel hinzu, daß das Röhrchen fast gefüllt ist. Nun wird die Saugpumpe langsam in Gang gesetzt, und entsprechend der ablaufenden Flüssigkeitsmenge gießt man oben soviel nach, daß das Röhrchen niemals leer läuft. Der größte Teil des Niederschlages bleibt gewöhnlich in der Schale zurück, und das Filtrieren der fast klaren Flüssigkeit gelingt ver-

[1]) *E. Wein*, Tabellen zur quantitativen Bestimmung der Zuckerarten. Stuttgart 1888.

hältnismäßig schnell. Dann spült man zum Schluß das Kupferoxydul mit heißem Wasser in das Filterröhrchen und wäscht so lange nach, bis das Filtrat nicht mehr alkalisch reagiert. Man verdrängt das Wasser mit Alkohol, gibt Äther nach und trocknet das Röhrchen im Trockenschrank.

Um die organischen Stoffe, welche mitgerissen sind, zu zerstören, wird durch das Röhrchen Luft gesaugt und zugleich der Kupferniederschlag geglüht, der dabei in schwarzes Kupferoxyd übergeht.

Da die Tabellen meistens auf metallisches Kupfer (Cu) berechnet sind, so kann man entweder das Kupferoxyd wiegen und auf metallisches Kupfer umrechnen, oder man reduziert es im Wasserstoffstrom und wiegt es als metallisches Kupfer. Zur Reduktion verbindet man mittelst Glasröhrchen und durchbohrtem Korkstopfen das weite Ende des Filterröhrchens mit einem Wasserstoffentwicklungsapparat und leitet Wasserstoff hindurch. Nachdem die Luft ausgetrieben worden ist, erhitzt man die Asbestschicht mit kleiner Flamme, worauf die Reduktion schnell verläuft. Es ist aber längeres Erwärmen notwendig, um das entstehende Wasser vollständig auszutreiben; dann läßt man im Wasserstoffstrom erkalten und wiegt. Aus den Tabellen kann man dann den Zuckergehalt entnehmen.

Die Fällung nimmt man am besten in einer glatten Porzellanschale vor, in die man zunächst die angegebene Menge *Fehling*scher Lösung und des Wassers bringt. Man erhitzt zum Kochen und fügt die erforderliche Menge der Zuckerlösung hinzu; sobald die Flüssigkeit wieder kocht, beobachtet man die Zeit und läßt das Ganze, so lange wie vorgeschrieben ist, langsam kochen. Dann entfernt man die Flamme, läßt die Flüssigkeit einen Augenblick ruhen, damit sich das Kupferoxydul absetzt, und filtriert sofort in der vorher beschriebenen Weise.

Will man den Niederschlag als Kupferoxyd wiegen, so muß die Luft, welche zur Oxydation gebraucht wird, vorher durch konzentrierte Schwefelsäure oder Chlorkalzium getrocknet werden. Da ein Teil Kupferoxyd 0·799 Teilen Kupfer entspricht, so ist die gefundene Menge zur Berechnung von Cu mit 0·799 zu multiplizieren.

Bestimmung des Traubenzuckers nach *F. Allihn.*

30 cm^3 Kupferlösung (69·278 *g* zu 1 *l* gelöst), 30 cm^3 Seignettesalzlösung (173 *g* Seignettesalz und 125 *g* Kalihydrat in Wasser zu 500 cm^3 gelöst) und 60 cm^3 Wasser werden zum Sieden erhitzt. Darauf werden 25 cm^3 einer Zuckerlösung zugegeben, welche nicht mehr als 1%ig sein darf, und das Ganze wird 2 Minuten lang im Sieden erhalten.

Für diese Zuckerbestimmung ist eine etwas andere Seignettesalzlösung vorgeschrieben, als sie sonst zur *Fehling*schen Lösung gehört. Man kann aber, ohne das Resultat wesentlich zu verschlechtern, auch die gewöhnliche Lösung (173 *g* Seignettesalz und 51·6 *g* Natriumhydroxyd zu 500 cm^3 Wasser) verwenden.

Tabelle
zur Bestimmung des Traubenzuckers (Dextrose) nach F. Allihn.

mg Kupfer	*mg* Dextrose	*mg* Kupfer	*mg* Dextrose	*mg* Kupfer	*mg* Dextrose	*mg* Kupfer	*mg* Dextrose
10	6·1	52	26·9	94	47·9	136	69·3
11	6·6	53	27·4	95	48·4	137	69·8
12	7·1	54	27·9	96	48·9	138	70·3
13	7·6	55	28·4	97	49·4	139	70·8
14	8·1	56	28·8	98	49·9	140	71·3
15	8·6	57	29·3	99	50·4	141	71·8
16	9·0	58	29·8	100	50·9	142	72·3
17	9·5	59	30·3	101	51·4	143	72·9
18	10·0	60	30·8	102	51·9	144	73·4
19	10·5	61	31·3	103	52·4	145	73·9
20	11·0	62	31·8	104	52·9	146	74·4
21	11·5	63	32·3	105	53·5	147	74·9
22	12·0	64	32·8	106	54·0	148	75·5
23	12·5	65	33·3	107	54·5	149	76·0
24	13·0	66	33·8	108	55·0	150	76·5
25	13·5	67	34·3	109	55·5	151	77·0
26	14·0	68	34·8	110	56·0	152	77·5
27	14·5	69	35·3	111	56·5	153	78·1
28	15·0	70	35·8	112	57·0	154	78·6
29	15·5	71	36·3	113	57·5	155	79·1
30	16·0	72	36·8	114	58·0	156	79·6
31	16·5	73	37·3	115	58·6	157	80·1
32	17·0	74	37·8	116	59·1	158	80·7
33	17·5	75	38·3	117	59·6	159	81·2
34	18·0	76	38·8	118	60·1	160	81·7
35	18·5	77	39·3	119	60·6	161	82·2
36	18·9	78	39·8	120	61·1	162	82·7
37	19·4	79	40·3	121	61·6	163	83·3
38	19·9	80	40·8	122	62·1	164	83·8
39	20·4	81	41·3	123	62·6	165	84·3
40	20·9	82	41·8	124	63·1	166	84·8
41	21·4	83	42·3	125	63·7	167	85·3
42	21·9	84	42·8	126	64·2	168	85·9
43	22·4	85	43·4	127	64·7	169	86·4
44	22·9	86	43·9	128	65·2	170	86·9
45	23·4	87	44·4	129	65·7	171	87·4
46	23·9	88	44·9	130	66·2	172	87·9
47	24·4	89	45·4	131	66·7	173	88·5
48	24·9	90	45·9	132	67·2	174	89·0
49	25·4	91	46·4	133	67·7	175	89·5
50	25·9	92	46·9	134	68·2	176	90·0
51	26·4	93	47·4	135	68·8	177	90·5

mg Kupfer	mg Dextrose	mg Kupfer	mg Dextrose	mg Kupfer	mg Dextrose	mg Kupfer	mg Dextrose
178	91·1	222	114·3	266	137·8	310	162·0
179	91·6	223	114·8	267	138·4	311	162·6
180	92·1	224	115·3	268	138·9	312	163·1
181	92·6	225	115·9	269	139·5	313	163·7
182	93·1	226	116·4	270	140·0	314	164·2
183	93·7	227	116·9	271	140·6	315	164·8
184	94·2	228	117·4	272	141·1	316	165·3
185	94·7	229	118·0	273	141·7	317	165·9
186	95·2	230	118·5	274	142·2	318	166·4
187	95·7	231	119·0	275	142·8	319	167·0
188	96·3	232	119·6	276	143·3	320	167·5
189	96·8	233	120·1	277	143·9	321	168·1
190	97·3	234	120·7	278	144·4	322	168·6
191	97·8	235	121·2	279	145·0	323	169·2
192	98·4	236	121·7	280	145·5	324	169·7
193	98·9	237	122·3	281	146·1	325	170·3
194	99·4	238	122·8	282	146·6	326	170·9
195	100·0	239	123·4	283	147·2	327	171·4
196	100·5	240	123·9	284	147·7	328	172·0
197	101·0	241	124·4	285	148·3	329	172·5
198	101·5	242	125·0	286	148·8	330	173·1
199	102·0	243	125·5	287	149·4	331	173·7
200	102·6	244	126·0	288	149.9	332	174·2
201	103·2	245	126·6	289	150·5	333	174·8
202	103·7	246	127·1	290	151·0	334	175·3
203	104·2	247	127·6	291	151·6	335	175·9
204	104·7	248	128·1	292	152·1	336	176·5
205	105·3	249	128·7	293	152·7	337	177·0
206	105·8	250	129·2	294	153·2	338	177·6
207	106·3	251	129·7	295	153·8	339	178·1
208	106·8	252	130·3	296	154·3	340	178·7
209	107·4	253	130·8	297	154·9	341	179·3
210	107·9	254	131·4	298	155·4	342	179·8
211	108·4	255	131·9	299	156·0	343	180·4
212	109·0	256	132·4	300	156·5	344	180·9
213	109·5	257	133·0	301	157·1	345	181·5
214	110·0	258	133·5	302	157·6	346	182·1
215	110·6	259	134·1	303	158·2	347	182·6
216	111·1	260	134·6	304	158·7	348	183·2
217	111·6	261	135·1	305	159·3	349	183·7
218	112·1	262	135·7	306	159·8	350	184·3
219	112·7	263	136·2	307	160·4	351	184·9
220	113·2	264	136·8	308	160·9	352	185·4
221	113·7	265	137·3	309	161·5	353	186·0

mg Kupfer	*mg* Dextrose	*mg* Kupfer	*mg* Dextrose	*mg* Kupfer	*mg* Dextrose	*mg* Kupfer	*mg* Dextrose
354	186·6	382	202·5	410	218·7	437	234·5
355	187·2	383	203·1	411	219·3	438	235·1
356	187·7	384	203·7	412	219·9	439	235·7
357	188·3	385	204·3	413	220·4	440	236·3
358	188·9	386	204·8	414	221·0	441	236·9
359	189·4	387	205·4	415	221·6	442	237·5
360	190·0	388	206·0	416	222·2	443	238·1
361	190·6	389	206·5	417	222·8	444	238·7
362	191·1	390	207·1	418	223·3	445	239·3
363	191·7	391	207·7	419	223·9	446	239·8
364	192·3	392	208·3	420	224·5	447	240·4
365	192·9	393	208·8	421	225·1	448	241·0
366	193·4	394	209·4	422	225·7	449	241·6
367	194·0	395	210·0	423	226·3	450	242·2
368	194·6	396	210·6	424	226·9	451	242·8
369	195·1	397	211·2	425	227·5	452	243·4
370	195·7	398	211·7	426	228·0	453	244·0
371	196·3	399	212·3	427	228·6	454	244·6
372	196·8	400	212·9	428	229·2	455	245·2
373	197·4	401	213·5	429	229·8	456	245·7
374	198·0	402	214·1	430	230·4	457	246·3
375	198·6	403	214·6	431	231·0	458	246·9
376	199·1	404	215·2	432	231·6	459	247·5
377	199·7	405	215·8	433	232·2	460	248·1
378	200·3	406	216·4	434	232·8	461	248·7
379	200·8	407	217·0	435	233·4	462	249·3
380	201·4	408	217·5	436	233·9	463	249·9
381	202·0	409	218·1				

Bestimmung des Invertzuckers nach *E. Meissl.*

25 *cm*³ Kupferlösung und 25 *cm*³ Seignettesalzlösung (173 *g* Seignettesalz, 51·6 *g* Natriumhydroxyd zu 500 *cm*³ Wasser) und 25 *cm*³ der nicht mehr als 1%igen Invertzuckerlösung werden mit 25 *cm*³ Wasser versetzt. Die zum Sieden erhitzte Flüssigkeit wird weitere 2 Minuten im Sieden erhalten.

Tabelle

zur Bestimmung des Invertzuckers nach E. Meissl.

(Nach den von E. Meissl ermittelten Reduktionsfaktoren berechnet von E. Wein.)

mg Kupfer	*mg* Invertzucker	*mg* Kupfer	*mg* Invertzucker	*mg* Kupfer	*mg* Invertzucker	*mg* Kupfer	*mg* Invertzucker
90	46·9	131	68·7	172	90·8	213	113·6
91	47·4	132	69·2	173	91·4	214	114·2
92	47·9	133	69·7	174	91·9	215	114·7
93	48·4	134	70·3	175	92·4	216	115·3
94	48·9	135	70·8	176	93·0	217	115·8
95	49·5	136	71·3	177	93·5	218	116·4
96	50·0	137	71·9	178	94·1	219	117·0
97	50·5	138	72·4	179	94·6	220	117·5
98	51·1	139	72·9	180	95·2	221	118·1
99	51·6	140	73·5	181	95·7	222	118·7
100	52·1	141	74·0	182	96·2	223	119·2
101	52·7	142	74·5	183	96·8	224	119·8
102	53·2	143	75·1	184	97·3	225	120·4
103	53·7	144	75·6	185	97·8	226	120·9
104	54·3	145	76·1	186	98·4	227	121·5
105	54·8	146	76·7	187	99·0	228	122·1
106	55·3	147	77·2	188	99·5	229	122·6
107	55·9	148	77·8	189	100·1	230	123·2
108	56·4	149	78·3	190	100·6	231	123·8
109	56·9	150	78·9	191	101·2	232	124·3
110	57·5	151	79·4	192	101·7	233	124·9
111	58·0	152	80·0	193	102·3	234	125·5
112	58·5	153	80·5	194	102·9	235	126·0
113	59·1	154	81·0	195	103·4	236	126·6
114	59·6	155	81·6	196	104·0	237	127·2
115	60·1	156	82·1	197	104·6	238	127·8
116	60·7	157	82·7	198	105·1	239	128·3
117	61·2	158	83·2	199	105·7	240	128·9
118	61·7	159	83·8	200	106·3	241	129·5
119	62·3	160	84·3	201	106·8	242	130·0
120	62·8	161	84·8	202	107·4	243	130·6
121	63·3	162	85·4	203	107·9	244	131·2
122	63·9	163	85·9	204	108·5	245	131·8
123	64·4	164	86·5	205	109·1	246	132·3
124	64·9	165	87·0	206	109·6	247	132·9
125	65·5	166	87·6	207	110·2	248	133·5
126	66·0	167	88·1	208	110·8	249	134·1
127	66·5	168	88·6	209	111·3	250	134·6
128	67·1	169	89·2	210	111·9	251	135·2
129	67·6	170	89·7	211	112·5	252	135·8
130	68·1	171	90·3	212	113·0	253	136·3

mg Kupfer	*mg* Invert-zucker	*mg* Kupfer	*mg* Invert-zucker	*mg* Kupfer	*mg* Invert-zucker	*mg* Kupfer	*mg* Invert-zucker
254	136·9	299	163·2	343	189·6	387	216·8
255	137·5	300	163·8	344	190·2	388	217·4
256	138·1	301	164·4	345	190·8	389	218·0
257	138·6	302	165·0	346	191·4	390	218·7
258	139·2	303	165·6	347	192·0	391	219·3
259	139·8	304	166·2	348	192·6	392	219·9
260	140·4	305	166·8	349	193·2	393	220·5
261	140·9	306	167·3	350	193·8	394	221·2
262	141·5	307	167·9	351	194·4	395	221·8
263	142·1	308	168·5	352	195·0	396	222·4
264	142·7	309	169·1	353	195·6	397	223·1
265	143·2	310	169·7	354	196·2	398	223·7
266	143·8	311	170·3	355	196·8	399	224·3
267	144·4	312	170·9	356	197·4	400	224·9
268	144·9	313	171·5	357	198·0	401	225·7
269	145·5	314	172·1	358	198·6	402	226·4
270	146·1	315	172·7	359	199·2	403	227·1
271	146·7	316	173·3	360	199·8	404	227·8
272	147·2	317	173·9	361	200·4	405	228·6
273	147·8	318	174·5	362	201·1	406	229·3
274	148·4	319	175·1	363	201·7	407	230·0
275	149·0	320	175·6	364	202·3	408	230·7
276	149·5	321	176·2	365	203·0	409	231·4
277	150·1	322	176·8	366	203·6	410	232·1
278	150·7	323	177·4	367	204·2	411	232·8
279	151·3	324	178·0	368	204·8	412	233·5
280	151·9	325	178·6	369	205·5	413	234·3
281	152·5	326	179·2	370	206·1	414	235·0
282	153·1	327	179·8	371	206·7	415	235·7
283	153·7	328	180·4	372	207·3	416	236·4
284	154·3	329	181·0	373	208·0	417	237·1
285	154·9	330	181·6	374	208·6	418	237·8
286	155·5	331	182·2	375	209·2	419	238·5
287	156·1	332	182·8	376	209·9	420	239·2
288	156·7	333	183·5	377	210·5	421	239·9
289	157·2	334	184·1	378	211·1	422	240·6
290	157·8	335	184·7	379	211·7	423	241·3
291	158·4	336	185·4	380	212·4	424	242·0
292	159·0	337	186·0	381	213·0	425	242·7
293	159·6	338	186·6	382	213·6	426	243·4
294	160·2	339	187·2	383	214·3	427	244·1
295	160·8	340	187·8	384	214·9	428	244·9
296	161·4	341	188·4	385	215·5	429	245·6
297	162·0	342	189·0	386	216·1	430	246·3
298	162·6						

Bestimmung der Maltose nach *E. Wein.*

25 cm^3 Kupferlösung, 25 cm^3 Seignettesalzlösung (wie vorher) und 25 cm^3 der nicht mehr als 1%igen Maltoselösung werden gemischt, erhitzt und dann 4 Minuten im Kochen erhalten.

Tabelle
zur Bestimmung der Maltose nach E. Wein.

mg Kupfer	*mg* Maltose	*mg* Kupfer	*mg* Maltose	*mg* Kupfer	*mg* Maltose	*mg* Kupfer	*mg* Maltose
30	25·3	68	58·3	106	91·9	144	126·0
31	26·1	69	59·2	107	92·8	145	126·9
32	27·0	70	60·1	108	93·7	146	127·8
33	27·9	71	61·0	109	94·6	147	128·7
34	28·7	72	61·8	110	95·5	148	129·6
35	29·6	73	62·7	111	96·4	149	130·5
36	30·5	74	63·6	112	97·3	150	131·4
37	31·3	75	64·5	113	98·1	151	132·3
38	32·2	76	65·4	114	99·0	152	133·2
39	33·1	77	66·2	115	99·9	153	134·1
40	33·9	78	67·1	116	100·8	154	135·0
41	34·8	79	68·0	117	101·7	155	135·9
42	35·7	80	68·9	118	102·6	156	136·8
43	36·5	81	69·7	119	103·5	157	137·7
44	37·4	82	70·6	120	104·4	158	138·6
45	38·3	83	71·5	121	105·3	159	139·5
46	39·1	84	72·4	122	106·2	160	140·4
47	40·0	85	73·2	123	107·1	161	141·3
48	40·9	86	74·1	124	108·0	162	142·2
49	41·8	87	75·0	125	108·9	163	143·1
50	42·6	88	75·9	126	109·8	164	144·0
51	43·5	89	76·8	127	110·7	165	144·9
52	44·4	90	77·7	128	111·6	166	145·8
53	45·2	91	78·6	129	112·5	167	146·7
54	46·1	92	79·5	130	113·4	168	147·6
55	47·0	93	80·3	131	114·3	169	148·5
56	47·8	94	81·2	132	115·2	170	149·4
57	48·7	95	82·1	133	116·1	171	150·3
58	49·6	96	83·0	134	117·0	172	151·2
59	50·4	97	83·9	135	117·9	173	152·0
60	51·3	98	84·8	136	118·8	174	152·9
61	52·2	99	85·7	137	119·7	175	153·8
62	53·1	100	86·6	138	120·6	176	154·7
63	53·9	101	87·5	139	121·5	177	155·6
64	54·8	102	88·4	140	122·4	178	156·5
65	55·7	103	89·2	141	123·3	179	157·4
66	56·6	104	90·1	142	124·2	180	158·3
67	57·4	105	91·0	143	125·1	181	159·2

mg Kupfer	*mg* Maltose	*mg* Kupfer	*mg* Maltose	*mg* Kupfer	*mg* Maltose	*mg* Kupfer	*mg* Maltose
182	160·1	212	186·8	242	213·6	272	240·6
183	160·9	213	187·7	243	214·5	273	241·5
184	161·8	214	188·6	244	215·4	274	242·4
185	162·7	215	189·5	245	216·3	275	243·3
186	163·6	216	190·4	246	217·2	276	244·2
187	164·5	217	191·2	247	218·1	277	245·1
188	165·4	218	192·1	248	219·0	278	246·0
189	166·3	219	193·0	249	219·9	279	246·9
190	167·2	220	193·9	250	220·8	280	247·8
191	168·1	221	194·8	251	221·7	281	248·7
192	169·0	222	195·7	252	222·6	282	249·6
193	169·8	223	196·6	253	223·5	283	250·4
194	170·7	224	197·5	254	224·4	284	251·3
195	171·6	225	198·4	255	225·3	285	252·2
196	172·5	226	199·3	256	226·2	286	253·1
197	173·4	227	200·2	257	227·1	287	254·0
198	174·3	228	201·1	258	228·0	288	254·9
199	175·2	229	202·0	259	228·9	289	255·8
200	176·1	230	202·9	260	229·8	290	256·6
201	177·0	231	203·8	261	230·7	291	257·5
202	177·9	232	204·7	262	231·6	292	258·4
203	178·7	233	205·6	263	232·5	293	259·3
204	179·6	234	206·5	264	233·4	294	260·2
205	180·5	235	207·4	265	234·3	295	261·1
206	181·4	236	208·3	266	235·2	296	262·0
207	182·3	237	209·1	267	236·1	297	262·8
208	183·2	238	210·0	268	237·0	298	263·7
209	184·1	239	210·9	269	237·9	299	264·6
210	185·0	240	211·8	270	238·8	300	265·5
211	185·9	241	212·7	271	239·7		

Bestimmung der Laktose nach *F. Soxhlet.*

25 cm^3 Kupferlösung, 25 cm^3 Seignettesalzlösung (wie vorher), 20 bis 100 cm^3 Zuckerlösung, je nach Konzentration, werden gemischt; das Ganze wird auf 150 cm^3 gebracht und 6 Minuten lang im Kochen erhalten.

Tabelle
zur Bestimmung des Milchzuckers nach F. Soxhlet.

(Nach den von *F. Soxhlet* ermittelten Reduktionsfaktoren berechnet von *E. Wein*.)

mg Kupfer	*mg* Milchzucker	*mg* Kupfer	*mg* Milchzucker	*mg* Kupfer	*mg* Milchzucker	*mg* Kupfer	*mg* Milchzucker
100	71·6	141	102·0	182	133·1	223	164·2
101	72·4	142	102·8	183	133·9	224	164·9
102	73·1	143	103·5	184	134·7	225	165·7
103	73·8	144	104·3	185	135·4	226	166·4
104	74·6	145	105·1	186	136·2	227	167·2
105	75·3	146	105·8	187	137·0	228	167·9
106	76·1	147	106·6	188	137·7	229	168·6
107	76·8	148	107·3	189	138·5	230	169·4
108	77·6	149	108·1	190	139·3	231	170·1
109	78·3	150	108·8	191	140·0	232	170·9
110	79·0	151	109·6	192	140·8	233	171·6
111	79·8	152	110·3	193	141·6	234	172·4
112	80·5	153	111·1	194	142·3	235	173·1
113	81·3	154	111·9	195	143·1	236	173·9
114	82·0	155	112·6	196	143·9	237	174·6
115	82·7	156	113·4	197	144·6	238	175·4
116	83·5	157	114·1	198	145·4	239	176·2
117	84·2	158	114·9	199	146·2	240	176·9
118	85·0	159	115·6	200	146·9	241	177·7
119	85·7	160	116·4	201	147·7	242	178·5
120	86·4	161	117·1	202	148·5	243	179·3
121	87·2	162	117·9	203	149·2	244	180·1
122	87·9	163	118·6	204	150·0	245	180·8
123	88·7	164	119·4	205	150·7	246	181·6
124	89·4	165	120·2	206	151·5	247	182·4
125	90·1	166	120·9	207	152·2	248	183·2
126	90·9	167	121·7	208	153·0	249	184·0
127	91·6	168	122·4	209	153·7	250	184·8
128	92·4	169	123·2	210	154·5	251	185·5
129	93·1	170	123·9	211	155·2	252	186·3
130	93·8	171	124·7	212	156·0	253	187·1
131	94·6	172	125·5	213	156·7	254	187·9
132	95·3	173	126·2	214	157·5	255	188·7
133	96·1	174	127·0	215	158·2	256	189·4
134	96·9	175	127·8	216	159·0	257	190·2
135	97·6	176	128·5	217	159·7	258	191·0
136	98·3	177	129·3	218	160·4	259	191·8
137	99·1	178	130·1	219	161·2	260	192·5
138	99·8	179	130·8	220	161·9	261	193·3
139	100·5	180	131·6	221	162·7	262	194·1
140	101·3	181	132·4	222	163·4	263	194·9

mg Kupfer	*mg* Milchzucker	*mg* Kupfer	*mg* Milchzucker	*mg* Kupfer	*mg* Milchzucker	*mg* Kupfer	*mg* Milchzucker
264	195·7	299	223·5	333	250·0	367	277·9
265	196·4	300	224·4	334	250·8	368	278·8
266	197·2	301	225·2	335	251·6	369	279·6
267	198·0	302	225·9	336	252·5	370	280·5
268	198·8	303	226·7	337	253·3	371	281·4
269	199·5	304	227·5	338	254·1	372	282·2
270	200·3	305	228·3	339	254·9	373	283·1
271	201·1	306	229·1	340	255·7	374	283·9
272	201·9	307	229·8	341	256·5	375	284·8
273	202·7	308	230·6	342	257·4	376	285·7
274	203·5	309	231·4	343	258·2	377	286·5
275	204·3	310	232·2	344	259·0	378	287·4
276	205·1	311	232·9	345	259·8	379	288·2
277	205·9	312	233·7	346	260·6	380	289·1
278	206·7	313	234·5	347	261·4	381	289·9
279	207·5	314	235·3	348	262·3	382	290·8
280	208·3	315	236·1	349	263·1	383	291·7
281	209·1	316	236·8	350	263·9	384	292·5
282	209·9	317	237·6	351	264·7	385	293·4
283	210·7	318	238·4	352	265·5	386	294·2
284	211·5	319	239·2	353	266·3	387	295·1
285	212·3	320	240·0	354	267·2	388	296·0
286	213·1	321	240·7	355	268·0	389	296·8
287	213·9	322	241·5	356	268·8	390	297·7
288	214·7	323	242·3	357	269·6	391	298·5
289	215·5	324	243·1	358	270·4	392	299·4
290	216·3	325	243·9	359	271·2	393	300·3
291	217·1	326	244·6	360	272·1	394	301·1
292	217·9	327	245·4	361	272·9	395	302·0
293	218·7	328	246·2	362	273·7	396	302·8
294	219·5	329	247·0	363	274·5	397	303·7
295	220·3	330	247·7	364	275·3	398	304·6
296	221·1	331	248·5	365	276·2	399	305·4
297	221·9	332	249·2	366	277·1	400	306·3
298	222·7						

Bestimmung der Fruktose nach *R. Lehmann.*

25 *cm*³ Kupferlösung, 25 *cm*³ Seignettesalzlösung (346 *g* Seignettesalz und 250 *g* Natronhydrat werden in Wasser zu 1000 *cm*³ aufgefüllt) und 50 *cm*³ Wasser werden zum Sieden erhitzt; dann werden 25 *cm*³ Lävuloselösung, welche nicht mehr als 1%ig sein darf, hinzugefügt. Man unterhält 15 Minuten im Sieden.

Tabelle
zur Bestimmung der Lävulose nach R. Lehmann.

mg Kupfer	*mg* Lävulose	*mg* Kupfer	*mg* Lävulose	*mg* Kupfer	*mg* Lävulose	*mg* Kupfer	*mg* Lävulose
20	7·15	63	32·25	106	58·07	149	84·68
21	7·78	64	32·84	107	58·68	150	85·31
22	8·41	65	33·43	108	59·30	151	85·93
23	9·04	66	34·02	109	59·91	152	86·55
24	9·67	67	34·62	110	60·52	153	87·16
25	10·30	68	35·21	111	61·13	154	87·78
26	10·81	69	35·81	112	61·74	155	88·40
27	11·33	70	36·40	113	62·36	156	89·05
28	11·84	71	37·00	114	62·97	157	89·69
29	12·36	72	37·59	115	63·58	158	90·34
30	12·87	73	38·19	116	64·21	159	90·98
31	13·46	74	38·78	117	64·84	160	91·63
32	14·05	75	39·38	118	65·46	161	92·26
33	14·64	76	39·98	119	66·09	162	92·90
34	15·23	77	40·58	120	66·72	163	93·53
35	15·82	78	41·17	121	67·32	164	94·17
36	16·40	79	41·77	122	67·92	165	94·80
37	16·99	80	42·37	123	68·53	166	95·44
38	17·57	81	42·97	124	69·13	167	96·08
39	18·16	82	43·57	125	69·73	168	96·71
40	18·74	83	44·16	126	70·35	169	97·35
41	19·32	84	44·76	127	70·96	170	97·99
42	19·91	85	45·36	128	71·58	171	98·63
43	20·49	86	45·96	129	72·19	172	99·27
44	21·08	87	46·57	130	72·81	173	99·90
45	21·66	88	47·17	131	73·43	174	100·54
46	22·25	89	47·78	132	74·05	175	101·18
47	22·83	90	48·38	133	74·67	176	101·82
48	23·42	91	48·98	134	75·29	177	102·46
49	24·00	92	49·58	135	75·91	178	103·11
50	24·59	93	50·18	136	76·53	179	103·75
51	25·18	94	50·78	137	77·15	180	104·39
52	25·76	95	51·38	138	77·77	181	105·04
53	26·35	96	51·98	139	78·39	182	105·68
54	26·93	97	52·58	140	79·01	183	106·33
55	27·52	98	53·19	141	79·64	184	106·97
56	28·11	99	53·79	142	80·28	185	107·62
57	28·70	100	54·39	143	80·91	186	108·27
58	29·30	101	55·00	144	81·55	187	108·92
59	29·89	102	55·62	145	82·18	188	109·56
60	30·48	103	56·23	146	82·81	189	110·21
61	31·07	104	56·85	147	83·43	190	110·86
62	31·66	105	57·46	148	84·06	191	111·50

mg Kupfer	*mg* Lävulose	*mg* Kupfer	*mg* Lävulose	*mg* Kupfer	*mg* Lävulose	*mg* Kupfer	*mg* Lävulose
192	112·14	237	141·94	282	172·85	327	205·13
193	112·78	238	142·62	283	173·55	328	205·88
194	113·42	239	143·29	284	174·26	329	206·62
195	114·06	240	143·97	285	174·96	330	207·36
196	114·72	241	144·65	286	175·67	331	208·10
197	115·38	242	145·32	287	176·39	332	208·83
198	116·04	243	146·00	288	177·10	333	209·57
199	116·70	244	146·67	289	177·82	334	210·30
200	117·36	245	147·35	290	178·53	335	211·04
201	118·02	246	148·03	291	179·24	336	211·78
202	118·68	247	148·71	292	179·95	337	212·52
203	119·33	248	149·40	293	180·65	338	213·25
204	119·99	249	150·08	294	181·36	339	213·99
205	120·65	250	150·76	295	182·07	340	214·73
206	121·30	251	151·44	296	182·78	341	215·48
207	121·96	252	152·12	297	183·49	342	216·23
208	122·61	253	152·81	298	184·21	343	216·97
209	123·27	254	153·49	299	184·92	344	217·72
210	123·92	255	154·17	300	185·63	345	218·47
211	124·58	256	154·91	301	186·35	346	219·21
212	125·24	257	155·65	302	187·06	347	219·97
213	125·90	258	156·40	303	187·78	348	220·71
214	126·56	259	157·14	304	188·49	349	221·46
215	127·22	260	157·88	305	189·21	350	222·21
216	127·85	261	158·49	306	189·93	351	222·96
217	128·48	262	159·09	307	190·65	352	223·72
218	129·10	263	159·70	308	191·37	353	224·47
219	129·73	264	160·30	309	192·09	354	225·23
220	130·36	265	160·91	310	192·81	355	225·98
221	131·07	266	161·63	311	193·53	356	226·74
222	131·77	267	162·35	312	194·25	357	227·49
223	132·48	268	163·07	313	194·97	358	228·25
224	133·18	269	163·79	314	195·69	359	229·00
225	133·89	270	164·51	315	196·41	360	229·76
226	134·56	271	165·21	316	197·12	361	230·52
227	135·23	272	165·90	317	197·83	362	231·28
228	135·89	273	166·60	318	198·55	363	232·05
229	136·89	274	167·29	319	199·26	364	232·81
230	137·23	275	167·99	320	199·97	365	233·57
231	137·90	276	168·68	321	200·71	366	234·33
232	138·57	277	169·37	322	201·44	367	235·10
233	139·25	278	170·06	323	202·18	368	235·86
234	139·18	279	170·75	324	202·91	369	236·63
235	140·59	280	171·44	325	203·65	370	237·39
236	141·27	281	172·14	326	204·39	371	238·16

mg Kupfer	*mg* Lävulose	*mg* Kupfer	*mg* Lävulose	*mg* Kupfer	*mg* Lävulose	*mg* Kupfer	*mg* Lävulose
372	238·93	376	241·87	380	244·43	383	247·17
373	239·69	377	242·51	381	245·34	384	248·08
374	240·46	378	243·15	382	246·25	385	248·99
375	241·23	379	243·79				

Bestimmung des Rohrzuckers.

Zur gewichtsanalytischen Bestimmung mittelst *Fehling*scher Lösung wird der Rohrzucker mit Salzsäure in Invertzucker übergeführt. 100 *cm*³ der nicht mehr als 1% igen Rohrzuckerlösung erhitzt man in einem 250 *cm*³ Meßkolben eine halbe Stunde im kochenden Wasserbade mit 30 *cm*³ 1/10-Normalsalzsäure, setzt nach dem Abkühlen ebensoviel 1/10-Normalkalilauge hinzu und füllt auf 250 *cm*³ mit Wasser auf. Von dieser Lösung verwendet man 50 *cm*³ zur gewichtsanalytischen Bestimmung nach *E. Meissl*. Zur Umrechnung auf Rohrzucker wird der gefundene Invertzucker mit dem Faktor 0·95 multipliziert.

Bestimmung des Invertzuckers neben Rohrzucker.

Enthält das Gemenge von Rohrzucker und Invertzucker mehr als 10% Invertzucker, so wird dieser zuerst nach *E. Meissl* bestimmt und der Invertzuckergehalt nach der zugehörigen Tabelle berechnet. Dann wird invertiert wie vorher und abermals der Invertzucker bestimmt. Die Differenz der Bestimmung vor und nach der Inversion ergibt dann, mit 0·95 multipliziert, die Rohrzuckermenge.

Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß Rohrzucker, für sich mit *Fehling*scher Lösung erhitzt, bedeutend weniger Kupfer reduziert, als wenn er mit Invertzucker zusammen auf die Kupferlösung einwirkt. Demnach begünstigt die Anwesenheit anderer reduzierender Zuckerarten auch die reduzierende Wirkung des Rohrzuckers. Doch sind die Reduktionsverhältnisse nur dann stark abweichend, wenn auf 10 Teile Invertzucker mehr als 90 Teile Rohrzucker kommen.

Wenn man in diesem Falle den Invertzucker maßanalytisch nach *F. Soxhlet* bestimmt, wobei ein Überschuß von Kupferlösung vermieden wird, so wirkt der Rohrzucker nicht störend auf die Reduktion ein. Die Resultate der maßanalytischen Bestimmung des Invertzuckers sind daher auch bei Gegenwart von Rohrzucker zuverlässig.

Will man aber bei Anwesenheit von geringen Mengen Invertzucker neben viel Rohrzucker den Invertzucker gewichtsanalytisch bestimmen, so muß man folgendermaßen verfahren:

25 *cm*³ Kupferlösung und 25 *cm*³ Seignettelösung (gewöhnliche) werden mit 25 *cm*³ der Zuckerlösung, welche nicht mehr als 1% reduzierenden Zucker enthalten darf, und mit 25 *cm*³ Wasser versetzt. Man erhält 2 Minuten im Sieden.

Für diese Verhältnisse gelten die folgenden Tabellen:

Tabelle
für Gemische von 90% Rohrzucker und 10% Invertzucker.

mg Kupfer	*mg* Invertzucker	*mg* Kupfer	*mg* Invertzucker	*mg* Kupfer	*mg* Invertzucker	*mg* Kupfer	*mg* Invertzucker
98	50·0	140	71·9	182	94·3	224	117·2
99	50·5	141	72·4	183	94·8	225	117·8
100	51·0	142	72·9	184	95·3	226	118·3
101	51·6	143	73·4	185	95·9	227	118·9
102	52·1	144	74·0	186	96·4	228	119·4
103	52·6	145	74·5	187	96·9	229	120·0
104	53·1	146	75·0	188	97·5	230	120·5
105	53·6	147	75·5	189	98·0	231	121·1
106	54·2	148	76·1	190	98·5	232	121·6
107	54·7	149	76·6	191	99·0	233	122·2
108	55·2	150	77·1	192	99·6	234	122·7
109	55·7	151	77·7	193	100·2	235	123·3
110	56·2	152	78·2	194	100·7	236	123·8
111	56·8	153	78·8	195	101·3	237	124·4
112	57·3	154	79·3	196	101·8	238	124·9
113	57·8	155	79·8	197	102·4	239	125·4
114	58·3	156	80·4	198	102·9	240	126·0
115	58·8	157	80·9	199	103·5	241	126·5
116	59·4	158	81·4	200	104·0	242	127·1
117	59·9	159	82·0	201	104·6	243	127·6
118	60·4	160	82·5	202	105·1	244	128·2
119	60·9	161	83·0	203	105·7	245	128·7
120	61·5	162	83·6	204	106·2	246	129·3
121	62·0	163	84·1	205	106·8	247	129·8
122	62·5	164	84·6	206	107·3	248	130·3
123	63·0	165	85·2	207	107·9	249	130·9
124	63·5	166	85·7	208	108·4	250	131·4
125	64·1	167	86·2	209	109·0	251	132·0
126	64·6	168	86·8	210	109·5	252	132·5
127	65·1	169	87·3	211	110·1	253	133·1
128	65·6	170	87·8	212	110·6	254	133·6
129	66·1	171	88·4	213	111·2	255	134·2
130	66·7	172	88·9	214	111·7	256	134·7
131	67·2	173	89·5	215	112·3	257	135·3
132	67·7	174	90·0	216	112·8	258	135·8
133	68·2	175	90·5	217	113·4	259	136·3
134	68·7	176	91·1	218	113·9	260	136·9
135	69·3	177	91·6	219	114·5	261	137·4
136	69·8	178	92·1	220	115·0	262	138·0
137	70·3	179	92·7	221	115·6	263	138·5
138	70·8	180	93·2	222	116·1	264	139·1
139	71·3	181	93·7	223	116·7	265	139·6

mg Kupfer	*mg* Invert-zucker	*mg* Kupfer	*mg* Invert-zucker	*mg* Kupfer	*mg* Invert-zucker	*mg* Kupfer	*mg* Invert-zucker
266	140·2	309	164·3	352	189·0	395	215·6
267	140·7	310	164·8	353	189·6	396	216·3
268	141·2	311	165·4	354	190·2	397	216·9
269	141·8	312	166·0	355	190·7	398	217·6
270	142·3	313	166·5	356	191·3	399	218·2
271	142·9	314	167·1	357	191·9	400	218·9
272	143·4	315	167·7	358	192·5	401	219·6
273	144·0	316	168·3	359	193·0	402	220·2
274	144·5	317	168·8	360	193·6	403	220·9
275	145·1	318	169·4	361	194·2	404	221·5
276	145·7	319	170·0	362	194·8	405	222·2
277	146·2	320	170·5	363	195·3	406	222·9
278	146·7	321	171·1	364	195·9	407	223·5
279	147·3	322	171·7	365	196·6	408	224·2
280	147·8	323	172·3	366	197·1	409	224·9
281	148·4	324	172·8	367	197·6	410	225·6
282	148·9	325	173·4	368	198·2	411	226·3
283	149·5	326	174·0	369	198·8	412	227·1
284	150·0	327	174·5	370	199·4	413	227·8
285	150·6	328	175·2	371	200·0	414	228·6
286	151·1	329	175·7	372	200·6	415	229·3
287	151·7	330	176·3	373	201·2	416	230·1
288	152·3	331	176·9	374	201·9	417	230·8
289	152·9	332	177·5	375	202·5	418	231·5
290	153·4	333	178·0	376	203·2	419	232·3
291	154·0	334	178·6	377	203·8	420	233·0
292	154·6	335	179·2	378	204·5	421	233·8
293	155·1	336	179·8	379	205·1	422	234·5
294	155·7	337	180·3	380	205·8	423	235·3
295	156·3	338	180·9	381	206·4	424	236·0
296	156·8	339	181·5	382	207·1	425	236·7
297	157·4	340	182·1	383	207·7	426	237·5
298	158·0	341	182·7	384	208·4	427	238·2
299	158·6	342	183·2	385	209·0	428	239·0
300	159·1	343	183·8	386	209·7	429	239·7
301	159·7	344	184·4	387	210·3	430	240·5
302	160·3	345	185·0	388	211·0	431	241·2
303	160·8	346	185·5	389	211·6	432	242·0
304	161·4	347	186·1	390	212·3	433	242·7
305	162·0	348	186·7	391	213·0	434	243·4
306	162·6	349	187·3	392	213·6	435	244·2
307	163·1	350	187·8	393	214·3	436	244·9
308	163·7	351	188·4	394	214·9		

Tabelle

für Gemische von 95% Rohrzucker und 5% Invertzucker.

mg Kupfer	*mg* Invertzucker	*mg* Kupfer	*mg* Invertzucker	*mg* Kupfer	*mg* Invertzucker	*mg* Kupfer	*mg* Invertzucker
100	48·4	142	69·2	184	90·3	226	112·4
101	48·9	143	69·7	185	90·8	227	113·0
102	49·4	144	70·2	186	91·3	228	113·5
103	49·9	145	70·7	187	91·8	229	114·1
104	50·4	146	71·2	188	92·3	230	114·6
105	50·9	147	71·7	189	92·8	231	115·2
106	51·4	148	72·2	190	93·3	232	115·7
107	51·9	149	72·7	191	93·8	233	116·2
108	52·4	150	73·2	192	94·3	234	116·8
109	52·9	151	73·7	193	94·8	235	117·3
110	53·4	152	74·2	194	95·3	236	117·9
111	53·9	153	74·7	195	95·8	237	118·4
112	54·4	154	75·2	196	96·3	238	119·0
113	54·9	155	75·7	197	96·8	239	119·5
114	55·4	156	76·2	198	97·3	240	120·1
115	55·9	157	76·7	199	97·8	241	120·6
116	56·3	158	77·2	200	98·3	242	121·2
117	56·8	159	77·7	201	98·8	243	121·7
118	57·3	160	78·2	202	99·3	244	122·3
119	57·8	161	78·7	203	99·8	245	122·8
120	58·3	162	79·2	204	100·4	246	123·4
121	58·8	163	79·7	205	100·9	247	123·9
122	59·3	164	80·2	206	101·5	248	124·5
123	59·8	165	80·7	207	102·0	249	125·0
124	60·3	166	81·2	208	102·6	250	125·6
125	60·8	167	81·7	209	103·1	251	126·1
126	61·3	168	82·2	210	103·7	252	126·7
127	61·8	169	82·7	211	104·2	253	127·3
128	62·3	170	83·2	212	104·8	254	127·8
129	62·8	171	83·8	213	105·3	255	128·4
130	63·3	172	84·3	214	105·9	256	128·9
131	63·8	173	84·8	215	106·4	257	129·5
132	64·3	174	85·3	216	106·9	258	130·1
133	64·8	175	85·8	217	107·5	259	130·6
134	65·3	176	86·3	218	108·0	260	131·2
135	65·8	177	86·8	219	108·6	261	131·8
136	66·3	178	87·3	220	109·1	262	132·3
137	66·8	179	87·8	221	109·7	263	132·9
138	67·3	180	88·3	222	110·2	264	133·4
139	67·8	181	88·8	223	110·8	265	134·0
140	68·3	182	89·3	224	111·3	266	134·6
141	68·7	183	89·8	225	111·9	267	135·1

mg Kupfer	mg Invert-zucker	mg Kupfer	mg Invert-zucker	mg Kupfer	mg Invert-zucker	mg Kupfer	mg Invert-zucker
268	135·7	312	160·7	355	185·6	398	211·5
269	136·3	313	161·2	356	186·2	399	212·1
270	136·8	314	161·8	357	186·8	400	212·7
271	137·4	315	162·4	358	187·4	401	213·3
272	137·9	316	163·0	359	188·0	402	213·9
273	138·5	317	163·5	360	188·6	403	214·6
274	139·1	318	164·1	361	189·2	404	215·1
275	139·6	319	164·7	362	189·8	405	215·7
276	140·2	320	165·3	363	190·4	406	216·4
277	140·8	321	165·8	364	191·0	407	217·0
278	141·3	322	166·4	365	191·6	408	217·6
279	141·9	323	167·0	366	192·1	409	218·2
280	142·4	324	167·5	367	192·7	410	218·8
281	143·0	325	168·1	368	193·3	411	219·4
282	143·6	326	168·7	369	193·9	412	220·0
283	144·1	327	169·3	370	194·5	413	220·6
284	144·7	328	169·8	371	195·1	414	221·3
285	145·3	329	170·4	372	195·7	415	221·9
286	145·8	330	171·0	373	196·3	416	222·5
287	146·4	331	171·6	374	196·9	417	223·1
288	147·0	332	172·1	375	197·5	418	223·7
289	147·5	333	172·7	376	198·0	419	224·3
290	148·1	334	173·3	377	198·6	420	224·9
291	148·6	335	173·9	378	199·2	421	225·9
292	149·2	336	174·4	379	199·8	422	226·9
293	149·8	337	175·0	380	200·4	423	228·0
294	150·3	338	175·6	381	201·0	424	229·0
295	150·9	339	176·2	382	201·7	425	230·0
296	151·5	340	176·8	383	202·3	426	231·0
297	152·1	341	177·4	384	202·9	427	232·0
298	152·6	342	178·0	385	203·5	428	233·0
299	153·2	343	178·5	386	204·1	429	234·0
300	153·8	344	179·1	387	204·7	430	235·1
301	154·4	345	179·7	388	205·3	431	236·1
302	154·9	346	180·3	389	205·9	432	237·1
303	155·5	347	180·9	390	206·5	433	238·1
304	156·1	348	181·5	391	207·2	434	239·1
305	156·7	349	182·1	392	207·8	435	240·2
306	157·2	350	182·7	393	208·4	436	241·2
307	157·8	351	183·3	394	209·0	437	242·2
308	158·4	352	183·9	395	209·6	438	243·2
309	158·9	353	184·5	396	210·2	439	244·2
310	159·5	354	185·0	397	210·8	440	245·3
311	160·1						

Tabelle
für Gemische von 99% Rohrzucker und 1% Invertzucker.

mg Kupfer	mg Invertzucker	mg Kupfer	mg Invertzucker	mg Kupfer	mg Invertzucker	mg Kupfer	mg Invertzucker
130	49·2	172	70·0	214	91·7	256	113·7
131	49·7	173	70·5	215	92·2	257	114·2
132	50·2	174	71·0	216	92·7	258	114·7
133	50·7	175	71·5	217	93·3	259	115·3
134	51·2	176	72·0	218	93·8	260	115·8
135	51·7	177	72·5	219	94·3	261	116·3
136	52·2	178	73·0	220	94·8	262	116·8
137	52·7	179	73·5	221	95·3	263	117·4
138	53·2	180	74·0	222	95·9	264	117·9
139	53·7	181	74·5	223	96·4	265	118·4
140	54·2	182	75·0	224	96·9	266	118·9
141	54·7	183	75·5	225	97·4	267	119·5
142	55·2	184	76·0	226	97·9	268	120·0
143	55·7	185	76·6	227	98·4	269	120·5
144	56·2	186	77·1	228	99·0	270	121·1
145	56·7	187	77·6	229	99·5	271	121·6
146	57·2	188	78·1	230	100·0	272	122·1
147	57·7	189	78·6	231	100·5	273	122·6
148	58·2	190	79·2	232	101·1	274	123·2
149	58·7	191	79·7	233	101·6	275	123·7
150	59·2	192	80·2	234	102·1	276	124·2
151	59·7	193	80·7	235	102·6	277	124·7
152	60·2	194	81·3	236	103·2	278	125·3
153	60·6	195	81·8	237	103·7	279	125·8
154	61·1	196	82·3	238	104·2	280	126·4
155	61·6	197	82·8	239	104·7	281	126·9
156	62·1	198	83·3	240	105·3	282	127·4
157	62·6	199	83·9	241	105·8	283	128·0
158	63·1	200	84·4	242	106·3	284	128·5
159	63·6	201	84·9	243	106·8	285	129·1
160	64·1	202	85·4	244	107·4	286	129·6
161	64·6	203	85·9	245	107·9	287	130·2
162	65·1	204	86·5	246	108·4	288	130·7
163	65·6	205	87·0	247	108·9	289	131·2
164	66·1	206	87·5	248	109·5	290	131·8
165	66·6	207	88·0	249	110·0	291	132·3
166	67·1	208	88·5	250	110·5	292	132·9
167	67·6	209	89·1	251	111·1	293	133·4
168	68·1	210	89·6	252	111·6	294	133·9
169	68·6	211	90·1	253	112·1	295	134·5
170	69·1	212	90·6	254	112·6	296	135·0
171	69·6	213	91·2	255	113·2	297	135·6

mg Kupfer	mg Invertzucker	mg Kupfer	mg Invertzucker	mg Kupfer	mg Invertzucker	mg Kupfer	mg Invertzucker
298	136·1	329	152·9	360	169·3	391	185·9
299	136·7	330	153·4	361	169·8	392	186·4
300	137·2	331	153·9	362	170·4	393	186·9
301	137·7	332	154·5	363	170·9	394	187·5
302	138·3	333	155·0	364	171·4	395	188·0
303	138·8	334	155·5	365	171·9	396	188·5
304	139·4	335	156·0	366	172·5	397	189·1
305	139·9	336	156·6	367	173·0	398	189·6
306	140·5	337	157·1	368	173·5	399	190·2
307	141·0	338	157·6	369	174·1	400	190·7
308	141·5	339	158·2	370	174·6	401	191·2
309	142·1	340	158·7	371	175·1	402	191·8
310	142·6	341	159·2	372	175·6	403	192·3
311	143·2	342	159·8	373	176·2	404	192·8
312	143·7	343	160·3	374	176·7	405	193·4
313	144·3	344	160·8	375	177·3	406	193·9
314	144·8	345	161·3	376	177·8	407	194·5
315	145·3	346	161·9	377	178·3	408	195·0
316	145·9	347	162·4	378	178·9	409	195·5
317	146·4	348	162·9	379	179·4	410	196·1
318	147·0	349	163·5	380	179·9	411	196·6
319	147·5	350	164·0	381	180·5	412	197·1
320	148·0	351	164·5	382	181·0	413	197·7
321	148·6	352	165·0	383	181·6	414	198·2
322	149·1	353	165·6	384	182·1	415	198·8
323	149·7	354	166·1	385	182·6	416	199·3
324	150·2	355	166·6	386	183·2	417	199·8
325	150·7	356	167·2	387	183·7	418	200·3
326	151·3	357	167·7	388	184·2	419	200·9
327	151·8	358	168·2	389	184·8	420	201·4
328	152·3	359	168·8	390	185·3		

Zur Ermittlung der auf eine bestimmte Menge Invertzucker treffenden Kupfermenge in Gemischen, die zwischen den vorstehenden 3 Tabellen liegen, dient die nachfolgende Tabelle, deren Zwischenglieder leicht durch Interpolation zu finden sind.

Bei Gemischen von Rohrzucker (R) und Invertzucker (I) in Prozenten	treffen auf *mg* Invertzucker								
	245	225	200	175	150	125	100	75	50
	mg Kupfer								
99 R + 1 I	—	—	417·3	370·8	323·6	277·5	230·0	182·0	131·5
98 R + 2 I	—	—	393·7	357·7	304·7	259·7	213·7	166·0	113·8
97 R + 3 I	—	—	385·7	350·6	298·4	253·8	207·9	158·3	107·9
96 R + 4 I	—	—	381·7	339·1	295·3	250·8	205·0	155·4	105·7
95 R + 5 I	439·7	420·1	379·3	337·0	293·4	249·0	203·3	153·6	103·2
94 R + 6 I	438·5	416·5	376·6	334·7	290·1	245·4	199·8	151·0	101·5
93 R + 7 I	437·6	413·9	374·6	332·3	287·8	242·9	197·3	149·2	100·2
92 R + 8 I	437·0	411·9	373·1	330·4	286·3	241·0	195·4	147·9	99·3
91 R + 9 I	436·5	410·3	372·0	328·8	285·1	239·4	193·9	146·8	98·6
90 R + 10 I	436·1	409·2	371·1	327·8	284·0	238·2	192·7	146·0	98·0

Bestimmung des Invertzuckers neben Dextrose sowie anderer Zuckerarten nebeneinander.

Um Zuckerarten nebeneinander zu bestimmen oder ihre Identität mit einer bekannten festzustellen, bedient man sich ihrer Eigenschaft, *Fehling*sche Kupferlösung und *Sachsse*sche Quecksilberlösung in verschiedenen, aber unter gleichen Arbeitsbedingungen konstanten Verhältnissen zu reduzieren. Die Ausführung der Bestimmung geschieht auf maßanalytischem Wege.[1])

Für die Berechnung der Zuckermengen hat *Fr. Soxhlet* gefunden, daß 1 *g* der verschiedenen Zuckerarten in 1%iger Lösung folgende Mengen *Fehling*scher und *Sachsse*scher Lösungen reduziert:

Zucker	1 *g* Zucker in 1%iger Lösung reduziert		100 cm^3 der Lösungen von	
	Fehling	*Sachsse*	*Fehling*	*Sachsse*
			werden reduziert in 1%iger Lösung durch	
	cm^3	cm^3	*mg*	*mg*
Traubenzucker (Dextrose) . . .	210·4	302·5	475·3	330·5
Invertzucker	202·4	376·0	494·1	266·0
Lävulose	194·4	449·5	514·1	222·5
Milchzucker	148·0	214·5	675·7	466·0
Desgl. (nach der Inversion) . .	202·4	257·7	494·1	388·0
Galaktose	196·0	226·0	510·2	442·0
Maltose	128·4	197·6	778·8	506·0

[1]) *Fr. Soxhlet*, Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 21, S. 300 (1880).

Wenn man eine 1%ige Zuckerlösung, welche z. B. Dextrose (durch Inversion von Dextrin) und Invertzucker (durch Inversion von Rohrzucker) enthält, einerseits mit *Fehling*scher Kupferlösung, andrerseits mit *Sachsse*scher Quecksilberlösung titriert, so berechnet sich der Gehalt an Dextrose und Invertzucker aus den beiden Gleichungen:

$$ax + by = F, \quad cx + dy = S.$$

Darin bedeutet:

a die Anzahl der Kubikzentimeter *Fehling*scher Lösung, welche durch 1 *g* Dextrose reduziert wird;

b die Anzahl der Kubikzentimeter *Fehling*scher Lösung, welche durch 1 *g* Invertzucker reduziert wird;

c die Anzahl der Kubikzentimeter *Sachsse*scher Lösung, welche durch 1 *g* Dextrose reduziert wird;

d die Anzahl der Kubikzentimeter *Sachsse*scher Lösung, welche durch 1 *g* Invertzucker reduziert wird;

F die Anzahl der für 1 Vol. der Zuckerlösung (etwa 100 cm^3) verbrauchten Kubikzentimeter *Fehling*scher Lösung;

S die Anzahl der für 1 Vol. der Zuckerlösung (etwa 100 cm^3) verbrauchten Kubikzentimeter *Sachsse*scher Lösung;

x die Menge der gesuchten Dextrose in Gramm, enthalten in 1 Vol. der Zuckerlösung;

y die Menge des gesuchten Invertzuckers in Gramm, enthalten in 1 Vol. der Zuckerlösung.

Handelt es sich um Bestimmung von Dextrose und Invertzucker nebeneinander, so würden die Formeln lauten:

$$210{\cdot}4\,x + 202{\cdot}4\,y = F,$$
$$302{\cdot}5\,x + 376{\cdot}0\,y = S.$$

Hieraus berechnet man die Dextrosen und den Invertzucker in bekannter Weise.

Statt dieses Verfahrens kann man sich auch des Verfahrens von *Kjeldahl* bedienen, welches darauf beruht, daß man zunächst das Reduktionsvermögen gegen eine geringe Menge (etwa 15 cm^3) *Fehling*scher Lösung bestimmt und dann unter Anwendung einer vielfachen (n) Menge der Zuckerlösung eine Bestimmung unter Benutzung von 50 oder 100 cm^3 *Fehling*scher Lösung ausführt.[1]

Bestimmung von Rohrzucker, Dextrose, Lävulose, Maltose, Isomaltose und Dextrin nebeneinander.

Bei gleichzeitiger Anwesenheit dieser Zuckerarten und des Dextrins bestimmt man:

a) Das Reduktionsvermögen für *Fehling*sche Lösung,

α) in der Lösung direkt,

---

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 35. S. 345 bzw. 347 (1896).

β) nach der Inversion mit Invertin (bei 50—55°),

γ) in dem Gärrückstande nach dem Vergären mit einer geeigneten, Maltose nicht vergärenden, reingezüchteten Weinhefe direkt,

δ) in dem nach γ erhaltenen Gärrückstande nach der Inversion mit Salzsäure nach *Sachsse* mit 1, 2 und 4 Stunden Kochdauer.

b) Die Dextrine durch Alkoholfällung in der ursprünglichen Lösung.

Aus diesen Bestimmungen ergibt sich:

1. Der Rohrzucker aus der Differenz von α und β,
2. die Summe von Dextrose und Lävulose aus der Differenz von α und γ,
3. die Summe von Maltose und Isomaltose aus der Differenz von δ und b,
4. der Gehalt an Dextrinen aus b.

Sind einzelne der angeführten Zuckerarten nicht zugegen, so können unter Umständen Vereinfachungen eintreten.

Aus dieser Übersicht ergibt sich keine Trennung von Maltose und Isomaltose und keine von Dextrose und Invertzucker; auch ist keine Rücksicht genommen auf den Einfluß, den die Gegenwart von Rohrzucker auf das Reduktionsvermögen anderer Zuckerarten ausübt.

Wenn die Werte auch nur annähernde sind, so ist doch in allen Fällen, in welchen Malzextrakt oder Stärkezuckersirup, bzw. Most- und Süßweine in Frage kommen, ein Bedürfnis für eine solche Trennung der Zuckerarten vorhanden und für die meisten Fragen genügt die nach vorstehendem Verfahren zu erzielende Genauigkeit.

Bestimmung der Raffinose neben Rohrzucker, siehe unter Zucker.

C. Bestimmung der Zuckerarten durch Polarisation:

Bestimmung des Rohrzuckers.

Die spezifische Drehung des Rohrzuckers beträgt bei 17·5° = + 66·5°.

Polarisiert man eine Rohrzuckerlösung im 200 *mm*-Rohr bei 17·5° C, so entspricht 1° Drehung im Polarisationsapparat von

	g Rohrzucker in 100 *cm*³ Lösung
Mitscherlich, Laurent, Wild mit Kreisgradteilung	0·75
Soleil-Ventzke-Scheibler, *Schmidt-Hänsch* mit Zuckerskala	0·26048
Soleil-Dubosq mit Zuckerskala	0·1635

Bestimmung der Dextrose.

Bei verdünnten, bis zu 14 *g* wasserfreie Dextrose in 100 *cm*³ enthaltenden Dextroselösungen beträgt die spezifische Drehung der Dextrose + 53°, während sie bei konzentrierteren Lösungen nicht unerheblich größer ist

Da die kristallisierte Dextrose Birotation zeigt, so darf die Polarisation erst nach 24stündigem Stehen der Lösung oder nach $^1/_4$stündigem Erwärmen auf 100° C vorgenommen werden.

Verwendet man zur Polarisation Dextroselösungen, welche nicht mehr als 14 *g* wasserfreie Dextrose in 100 cm^3 enthalten, so entspricht 1° Drehung im 200 *mm*-Rohr im Polarisationsapparat von

	g Dextrose in 100 cm^3 Lösung
Mitscherlich, *Wild* und *Laurent* mit Kreisgradteilung . . .	0·9434
Soleil-Ventzke-Scheibler / *Schmidt-Hänsch* mit Zuckerskala	0·3268
Soleil-Dubosq mit Zuckerskala	0·2051

Weiteres über die polarimetrische Zuckerbestimmung siehe unter Kapitel „Zucker".

3. Bestimmung der in Wasser unlöslichen Kohlenhydrate.

Die Gesamtmenge der wasserunlöslichen Kohlenhydrate ergibt sich aus der Differenz der Gesamtmenge der Kohlenhydrate und der wasserlöslichen Kohlenhydrate.

A. Bestimmung der Stärke.

Als „Stärke" bezeichnen wir diejenigen Kohlenhydrate, welche in kaltem Wasser unlöslich sind, durch Diastase oder überhitzten Wasserdampf aber löslich werden und nach der Inversion *Fehling*sche Lösung reduzieren. Da das Umwandlungsprodukt der Stärke Dextrose ist, wird der Reduktionswert der Zuckerlösung nach *Fr. Soxhlet* oder *F. Allihn* ermittelt und auf Dextrose berechnet. Diese ergibt mit 0·9 vervielfacht die Stärkemenge.

Unter den vorgeschlagenen Methoden sind folgende am meisten zu empfehlen:

a) 3 *g* des möglichst fein gepulverten Stoffes werden, falls Zucker oder Dextrine vorhanden sind, mehrmals mit kaltem Wasser ausgezogen.[1] Der Rückstand wird in einem bedeckten Fläschchen oder besser in einem bedeckten Zinnbecher von 150—200 cm^3 Inhalt mit 100 cm^3 Wasser gemischt und in einem *Soxhlet*schen Dampftopf 3—4 Stunden lang bei 3 Atmosphären Druck erhitzt. In Ermanglung eines Dampftopfes kann man sich auch der *Reischauer-Lintner*schen Druckfläschchen bedienen, welche 8 Stunden auf 108—110° C im Glyzerinbade erhitzt werden.

[1] Wenn man den Extraktrückstand auf dem Filter noch feucht mit Alkohol behandelt und an der Luft trocknen läßt, so läßt er sich quantitativ vom Filter entfernen. Will man nicht mit kaltem Wasser wieder ausziehen, so kann man auch die einzeln bestimmten Mengen von Zucker und Dextrin von der Gesamtdextrose abziehen und den Rest auf Stärke berechnen. Sehr fettreiche Stoffe werden vorher mit Äther entfettet.

Der Inhalt des Bechers oder Fläschchens wird noch heiß durch einen mit Asbest beschickten Trichter filtriert und mit siedendem Wasser ausgewaschen.

Der Rückstand darf unter dem Mikroskop keine Stärkereaktion mehr geben. Das Filtrat wird auf etwa 200 *cm*³ ergänzt und mit 20 *cm*³ einer Salzsäure vom spez. Gew. 1·125 3 Stunden lang am Rückflußkühler im kochenden Wasserbade erhitzt. Darauf wird rasch abgekühlt, mit Natronlauge so weit neutralisiert, bis die Flüssigkeit nur noch schwach sauer reagiert, dann auf 500 *cm*³ aufgefüllt, und in dieser Lösung nach dem Filtrieren die Dextrose nach *Allihn* bestimmt. Die gefundene Dextrose mit 0·9 multipliziert ergibt die entsprechende Menge Stärke.

Will man die Dextrose maßanalytisch nach *Soxhlet* bestimmen, so ist die Zuckerlösung auf ein geringeres Volumen einzuengen.

b) Methode von *Märcker* und *Morgen*.[1]) 3 *g* der sehr fein gepulverten Substanz werden mit 50 *cm*³ Wasser in einem kleinen zylindrischen, etwa 100 *cm*³ fassenden Metallgefäß 20 Minuten durch Einstellen in kochendes Wasser verkleistert, sodann auf 70° C abgekühlt, mit 5 *cm*³ Malzauszug[2]) (100 *g* Grünmalz auf 500 *cm*³ Wasser) versetzt und 20 Minuten zur Verflüssigung des Stärkemehls in einem Wasserbade bei 65° C gehalten. Alsdann fügt man 5 *cm*³ einer 1%igen Weinsäurelösung hinzu (die Flüssigkeit enthält dann etwa 0·1% Weinsäure), bringt das mit einem Metallschälchen zugedeckte Gefäß in einen *Soxhlet*schen Dampftopf und erhitzt ½ Stunde auf 3 Atmosphären. Nach dem Erkalten und Öffnen des Dampftopfes senkt man das Gefäß wieder in das Wasserbad von 65° und versetzt mit 5 *cm*³ Malzauszug. Nach 20 Minuten ist alles Stärkemehl mit Sicherheit gelöst, und man spült den Inhalt des Metallgefäßes in einen 250 *cm*³-Kolben, filtriert und invertiert 200 *cm*³ des Filtrates mit 15 *cm*³ Salzsäure vom spez. Gew. 1·125. Nach dreistündigem Kochen ist die Inversion beendet; man bringt dann die invertierte Flüssigkeit in einen 500 *cm*³-Kolben, neutralisiert[3]) mit Kali- oder Natronlauge, füllt bis zur Marke auf und verwendet von dieser Lösung 50 *cm*³ zur Bestimmung der Dextrose. 50 *cm*³ entsprechen 0·24 *g* Substanz.

Zur Bestimmung des Dextrosewertes des Malzauszuges werden hiervon 50 *cm*³ mit 150 *cm*³ Wasser und 15 *cm*³ Salzsäure wie oben invertiert, dann neutralisiert und auf 250 *cm*³ aufgefüllt. Hiervon werden 50 *cm*³, die 10 *cm*³ Malzauszug entsprechen, zur Reaktion verwendet. Da in 50 *cm*³ der invertierten Stärkelösung 0·8 *cm*³ Malzauszug enthalten sind, so ist hierfür der Dextrosewert in Abzug zu bringen.

c) Verfahren der Verzuckerung der Stärke durch Diastase, welche das Erhitzen im Dampftopf umgeht. Von der Substanz wird so viel abgewogen, daß der Stärkegehalt nicht über 2 *g* beträgt. Die

[1]) *M. Märcker,* Handbuch der Spiritusfabrikation. 4. Aufl. S. 94 (1886).
[2]) Oder eine Diastase.
[3]) Die Flüssigkeit darf schwach sauer, aber nicht alkalisch reagieren.

feingemahlene Substanz wird in einer Reibschale mit lauwarmem Wasser angerieben, um die Klümpchen zu zerteilen, und mit Wasser in einen 200 *cm*³-Kolben gespült, bis die Gesamtmenge etwa 100 *cm*³ beträgt. Die Stärke wird durch Erwärmen im Wasserbade verkleistert, dann auf 60 bis 65° C abgekühlt und mit 15 Tropfen eines Malzauszuges oder einer Lösung von reiner Diastase[1]) versetzt. Die Mischung wird sodann 2 Stunden lang auf 60—65° C erwärmt, auf 200 *cm*³ aufgefüllt und filtriert. 100 *cm*³ des Filtrates werden mit 10 *cm*³ einer Salzsäure vom spez. Gew. 1·125 3 Stunden lang im kochenden Wasserbade erhitzt, dann mit Natronlauge bis zur schwach sauren Reaktion versetzt und auf 250 *cm*³ aufgefüllt. In dieser Lösung wird die Dextrose bestimmt. Falls mit Malzauszug verzuckert worden ist, ist sein Zuckergehalt zu bestimmen und in Abzug zu bringen. Bei Benutzung von reiner Diastase ist eine Zuckerbestimmung unnötig.

Dieses Verfahren ist weniger empfehlenswert, als die vorhergehenden. Jedenfalls ist es unbedingt erforderlich, sich zu überzeugen, daß in dem Filterrückstande mikroskopisch durch Jod keine Stärke mehr nachweisbar ist, da sie mitunter nicht völlig gelöst wird.

Nach allen diesen Verfahren wird nicht nur Stärke bestimmt, sondern es werden, wie *J. König* und *R. Großmann*[2]), *J. C. Lintner*[3]) nachgewiesen haben, auch die Hemizellulosen, namentlich die Pentosane mitbestimmt, die den Reduktionswert mehr oder weniger erhöhen. Deshalb hat man sich bemüht, andere Verfahren auszuarbeiten, welche den wirklichen Stärkegehalt angeben.

d) Das Verfahren von *J. Mayrhofer*[4]) beruht auf der Unlöslichkeit der Stärke in alkoholischer Kalilauge, worin Zucker, Eiweiß, Fette usw. löslich sind.

10—20 *g* Substanz werden in einem Becherglase mit 50 *cm*³ 8%iger alkoholischer Kalilauge übergossen und mit einem Uhrglase bedeckt auf ein kochendes Wasserbad gestellt. Nach kurzer Zeit ist die Masse gelöst. Man verdünnt, wenn nötig, mit heißem 50%igen Alkohol, läßt absitzen und filtriert. Den Rückstand wäscht man 2mal mit heißer alkoholischer Kalilauge und schließlich mit reinem Alkohol aus, bis das Filtrat mit Säure klar bleibt und nicht mehr alkalisch reagiert. Nun gibt man das Filter in das ursprüngliche Gefäß zurück und erwärmt mit 60 *cm*³ wässeriger Normalkalilauge ½ Stunde lang. Nach dem Erkalten wird mit Essigsäure angesäuert und das Volumen der Flüssigkeit auf 100 *cm*³ ge-

[1]) 2 *kg* frisches Grünmalz werden in einem Morser mit einer Mischung von 1 *l* Wasser auf 2 *l* Glyzerin übergossen, durchgemischt und 8 Tage stehen gelassen. Darauf preßt man die Flüssigkeit gut aus und filtriert. Das Filtrat wird mit dem 2- bis 2·5fachen Volumen Alkohol versetzt, der Niederschlag abfiltrirt, mit Alkohol und Äther entwässert und über Schwefelsäure getrocknet. Für den Gebrauch wird die Diastase in glyzerinhaltigem Wasser gelöst.

[2]) Landw. Versuchsstationen. Heft 48. S. 81 (1897).

[3]) Zeitschr. f. angew. Chem. S. 725 (1898).

[4]) Forschungsber. über Lebensmittel. IV. S. 47 (1897).

bracht: dann wird filtriert und in einem aliquoten Teil die Stärke mit gleichen Teilen Alkohol ausgefällt. Der Niederschlag wird auf einem gewogenen Filter gesammelt und mit 50%igem Alkohol so lange gewaschen, bis das Filtrat beim Verdampfen auf einem Uhrschälchen keinen Rückstand mehr hinterläßt. Schließlich wird mit absolutem Alkohol und Äther ausgewaschen und bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Soll noch eine Trennung des Glykogens, welches nach dieser Methode mitgefällt wird, von der Stärke durchgeführt werden, so ist nach *E. Baur* und *E. Polenske*[1]) zu verfahren, welche sie durch partielle Fällung mit Ammoniumsulfat trennen.

e) Auf ähnlicher Grundlage beruht das Verfahren von *G. Baumert.*[2]) Nach diesem werden 3 *g* des feingepulverten Stoffes in einem Becherglase mit 2—5 *cm*³ Wasser gleichmäßig verrieben und unter fortgesetztem Umrühren und Abkühlen mit 10 *cm*³ Salzsäure (1·19) versetzt. In 10 Minuten ist die gequollene Masse dünnflüssig geworden. Man fügt unter Rühren und guter Kühlung Natronlauge (20%) im Überschuß hinzu und spült den Inhalt des Becherglases mit Wasser in ein Kölbchen von 250 *cm*³ Inhalt, füllt zur Marke auf und filtriert nach dem Absetzen durch ein Faltenfilter.

Zu 25 *cm*³ des Filtrates wird 1 *g* feinflockiger Asbest und unter kräftigem Umrühren werden 50—60 *cm*³ Alkohol zugesetzt. Sobald der Niederschlag sich klar abgesetzt hat, wird er mit Hilfe einer Saugpumpe in einem vorher ausgeglühten Asbestfilterröhrchen gesammelt, zunächst mit Alkohol unter Zusatz von 3—5 *cm*³ verdünnter Salzsäure (zur Zersetzung des Stärkenatriums), darauf mit 80%igem, mit absolutem und schließlich mit Äther ausgewaschen. Nachdem das Röhrchen getrocknet und gewogen worden ist, wird der Inhalt im Sauerstoffstrom verbrannt und das Röhrchen nach dem Erkalten wieder gewogen. Der Gewichtsverlust ist Stärke.

B. Bestimmung der Pentosane.

Unter Pentosanen versteht man die Anhydride der Pentaglykosen oder Pentosen bezüglich Methylpentosen.

Zur Bestimmung werden sie durch Destillation mit Salzsäure in Furfurol übergeführt und dieses mit Phlorogluzin gefällt, welches hierbei in Phlorogluzid übergeführt wird.

Nach *Tollens*[3]) und *Krüger* geschieht dies folgendermaßen: 2—5 *g* der zu untersuchenden Substanz werden mit 100 *cm*³ Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1·06 in einem etwa 300 *cm*³ fassenden Kolben aus einem Bade von *Rose*schem Metall (1 Teil Blei, 1 Teil Zinn, 2 Teile Wismut) destilliert. Sobald 30 *cm*³ abdestilliert sind, werden wieder 30 *cm*³ Salzsäure

---

[1]) Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. S. 576 (1906).

[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Heft 18. S. 167 (1909).

[3]) Journ. f. Landwirtsch. Bd. 48. S. 357 (1900) und *J. König*, Chem. der menschl. Nahrungs- und Genußmittel Bd. 3. Teil 1. S. 448.

nachgefüllt, bis etwa 400 cm^3 Destillat gewonnen worden sind und kein Furfurol mehr überdestilliert. Zur Prüfung auf Furfurol wird ein Tropfen einer Lösung von essigsaurem Anilin mit einem Tropfen Destillat auf Filtrierpapier zusammengebracht: falls Rotfärbung entsteht, enthält das Destillat noch Furfurol. Das Destillat wird mit doppelt soviel Phlorogluzin (*Merck*) wie dem zu erwartenden Furfurol entsprechen würde, versetzt, welches man vorher in Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1·06 gelöst hat. Man rührt wiederholt um, läßt 15—18 Stunden stehen, filtriert durch ein gewogenes Filter oder einen Goochtiegel mit Asbesteinlage, wäscht mit 150 cm^3 Wasser nach und trocknet dann im Wassertrockenschrank $3^1/_2$ bis 4 Stunden lang. Aus dem gewogenen Phlorogluzid berechnet man das Furfurol nach folgender Tabelle:

Erhaltene Phlorogluzidmenge:	Divisor für die Berechnung auf Furfurol:
0·20 *g*	1·820 *g*
0·22 „	1·839 „
0·24 „	1·856 „
0·26 „	1·871 „
0·28 „	1·884 „
0·30 „	1·895 „
0·32 „	1·904 „
0·34 „	1·911 „
0·36 „	1·916 „
0·38 „	1·919 „
0·40 „	1·920 „
0·45 „	1·927 „
0·50 „	1·930 „
0·60 „	1·930 „

Die Umrechnung auf Pentosane erfolgt nach folgenden Formeln:

Pentosane:	Pentosen:
1·68 (Furfurol—0·0104) = Xylan	1·91 (Furfurol—0·0104) = Xylose
2·07 (Furfurol—0·0104) = Araban	2·35 (Furfurol—0·0104) = Arabinose
1·88 (Furfurol—0·0104) = Pentosane (allgemein)	2·13 (Furfurol—0·0104) = Pentosen (allgemein)

C. Bestimmung der Rohfaser.

Unter „Rohfaser" versteht man denjenigen Rest organischer Substanz, welcher übrig bleibt, wenn man 3 *g* eines feingepulverten Stoffes nacheinander je $^1/_2$ Stunde mit $1^1/_4$%iger Schwefelsäure und $1^1/_4$%iger Kalilauge kocht (*Weender*-Verfahren).

Zur Ausführung der Bestimmung werden 3 *g* der feingepulverten, nötigenfalls entfetteten Substanz in einer Porzellanschale, welche bis

zu einer kreisförmigen Marke 200 *cm*³ Flüssigkeit faßt, mit 200 *cm*³ 1¼ %iger Schwefelsäure genau ½ Stunde unter Ersatz des verdampfenden Wassers gekocht, sofort durch ein dünnes Asbestfilter filtriert und mit heißem Wasser ausgewaschen. Darauf spült man das Filter mit Inhalt in die Schale zurück, gibt 50 *cm*³ einer Kalilauge hinzu, welche 50 *g* Kalihydrat im Liter enthält, füllt bis zur Marke der Schale auf, kocht wieder genau ½ Stunde unter Ersatz des verdampfenden Wassers, filtriert durch ein neues Asbestfilter und wäscht reichlich mit kochendem Wasser und darauf mit Alkohol und Äther nach. Das lufttrockene Filter nebst Inhalt bringt man verlustlos[1]) in eine ausgeglühte Platinschale und trocknet 1 Stunde bei 100—105° C. Nachdem die Schale im Exsikkator erkaltet ist, wird sie so schnell wie möglich gewogen, darauf kräftig geglüht, bis kein Aufleuchten von verbrennenden Rohfaserteilchen mehr zu sehen ist, dann läßt man im Exsikkator erkalten und wiegt schnell. Die Differenz zwischen der ersten und zweiten Wägung ergibt die Rohfaser von 3 *g* Substanz.

Diese enthält vielfach noch beträchtliche Mengen (2—5%) Stickstoffsubstanz, die nötigenfalls in einem gleichbehandelten Teile der Substanz durch Verbrennen nach *Kjeldahl* ermittelt und von der Rohfaser abgezogen werden müssen.

Sehr stärkereiche Stoffe werden zweckmäßig vor dem Behandeln mit Säure und Alkali zur Lösung der Stärke mit Malzaufguß behandelt.

Das Verfahren nach *Weender* hat den Mangel, daß die Pentosane Lignin und Kutin nur teilweise gelöst werden. Deshalb hat *J. König*[2]) ein Verfahren ausgearbeitet, nach dem eine pentosanfreie oder wenigstens möglichst -arme Rohfaser erhalten wird, die allerdings reicher an Lignin ist, als nach *Weender*. Aber das Lignin läßt sich leicht durch Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd und Ammoniak entfernen und indirekt bestimmen.

Die Ausführung geschieht folgendermaßen: 3 *g* lufttrockene Substanz werden in einer Porzellanschale mit 200 *cm*³ Glyzerin vom spez. Gew. 1·23, dem auf 1 *l* 20 *g* konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt worden ist, entweder am Rückflußkühler bei 133 bis 135° gekocht oder in einem Autoklaven bei 137° 1 Stunde lang erhitzt. Darauf läßt man erkalten, verdünnt auf ungefähr 400 bis 500 *cm*³, kocht nochmals auf und filtriert heiß durch einen Goochtiegel mit Asbestfilter. Der Filterrückstand wird mit 400 *cm*³ heißem Wasser, darauf mit Alkohol und schließlich mit einem erwärmten Gemisch von Alkohol und Äther ausgewaschen, bis das Filtrat vollkommen farblos ist. Nach dem Trocknen wird gewogen, verascht und wieder gewogen. Die Differenz ist Rohfaser.

---

[1]) Dies erfolgt unschwer, wenn man das Filter mittelst eines Platinspatels abhebt und das dem Trichter oder der Filterplatte etwa noch Anhaftende mit einem Gummiwischer in die Platinschale befördert. Vorteilhaft kann man sich zur zweiten Filtration eines größeren Goochtiegels bedienen.

[2]) Zeitschr. f. Unters. der Nahr. und Genußm. Bd. 1. S. 1 (1898); ebenda. Bd. 6. S. 769 (1903).

Will man noch das Kutin und Lignin entfernen, so wird der Rückstand nicht getrocknet, sondern verlustlos in ein Becherglas gebracht, mit 100 bis 150 *cm*³ 3⁰/₀igem Wasserstoffsuperoxyd und 10 *cm*³ Ammoniak versetzt und 12 Stunden stehen gelassen. Dann werden noch so oft 10 *cm*³ 30⁰/₀igen, chemisch reinen Wasserstoffsuperoxyds zugesetzt, bis die Masse völlig weiß geworden ist; bei häufigerem Zusatz fügt man noch 5 *cm*³ Ammoniak hinzu. Nun erwärmt man 1 bis 2 Stunden im Wasserbad und filtriert durch ein Asbestfilter. Der Filterrückstand wird gut ausgewaschen und 2 Stunden mit 75 *cm*³ Kupferoxydammoniak unter öfterem Umrühren, zuletzt bei gelinder Wärme, behandelt und wieder durch einen Goochtiegel filtriert. Der Rückstand wird zunächst mit etwas Kupferoxydammoniak, dann mit Wasser nachgewaschen, darauf bei 105 bis 110⁰ getrocknet, gewogen, geglüht und wieder gewogen. Die Differenz ergibt die Menge des nicht oxydierbaren Teiles, das Kutin. Zur Abscheidung der Zellulose wird das Filtrat mit 300 *cm*³ 80prozentigem Alkohol versetzt und stark gerührt. Es wird in üblicher Weise filtriert, mit warmer verdünnter Salzsäure, dann mit Wasser und schließlich mit Alkohol und Äther ausgewaschen, getrocknet, gewogen und verascht. Der Gewichtsunterschied ergibt die Menge aschefreier Reinzellulose.

Gesamtrohfaser weniger Zellulose und Kutin ergibt die Menge des oxydierbaren Anteils der Rohfaser, die Lignine.

Bestimmung der Mineralstoffe.

Unter Mineralstoffen versteht man den anorganischen Rückstand, welcher nach dem Glühen verbleibt.

1. Bestimmung der Gesamtmineralstoffe oder der Asche.

5 bis 10 *g* eines Stoffes oder des Rückstandes einer entsprechenden Menge Flüssigkeit werden in einer ausgeglühten und gewogenen Platinschale bei möglichst niedriger Flamme verkohlt. Die Kohle wird mit heißem Wasser ausgelaugt, die Lösung durch ein möglichst aschefreies Filter in ein kleines Becherglas filtriert und mit heißem Wasser nachgewaschen. Das Filter mit dem Rückstande wird darauf in die Platinschale zurückgebracht, getrocknet und vollständig verascht. Darauf wird das Filtrat in der Schale auf dem Wasserbade unter Zusatz von Ammoniumkarbonat eingedampft, nochmals kurze Zeit schwach geglüht und nach dem Erkalten gewogen.

Vielfach ist außer der Bestimmung der Gesamtasche auch die der Reinasche oder der in Salzsäure löslichen Aschenbestandteile erforderlich.

Man erwärmt dann die Gesamtasche auf dem Wasserbade 1 Stunde lang mit 10⁰/₀iger Salzsäure, filtriert das Unlösliche ab, glüht und wiegt es. Die Differenz zwischen der Gesamtasche und dem Rückstande ist die Menge der in Salzsäure löslichen Aschenbestandteile.

Nicht selten enthält der in 10%iger Salzsäure unlösliche Rückstand noch wesentliche Mengen löslicher Kieselsäure. Man entfernt sie durch halbstündiges Auskochen mit einer kalt gesättigten Lösung von Natriumkarbonat, der etwas Natronlauge zugesetzt wird. Die Menge der Gesamtasche abzüglich des Rückstandes ergibt die Menge der Reinasche.

Für genaue Aschenbestimmungen ist es erforderlich, falls das Leuchtgas stark schwefelhaltig ist, andere Heizquellen, wie Spiritus- oder Benzinlampen zu verwenden, um den Einfluß der Verbrennungsprodukte auf die alkalischen Aschen auszuschließen.

Im allgemeinen ist es bei Nahrungsmitteln nicht angebracht, übermäßig stark zu erhitzen, da man mit langsamem Erhitzen schneller zum Ziele kommt und dem Schmelzen der Karbonate und dem Einschließen von Kohle vorbeugt. Sollte die Masse trotzdem schwer weiß brennen, so genügt fast immer ein vorsichtiges Aufweichen mit destilliertem Wasser, dem eventuell etwas Wasserstoffsuperoxyd zugesetzt werden kann. Nach dem Verdampfen des Wassers wird wieder langsam erhitzt und dieses Verfahren ist, falls erforderlich, mehrmals zu wiederholen. Hierbei werden auch cyansaure Salze zerstört. Die Verwendung von Ammoniumnitrat ist dagegen nicht zu empfehlen.

Für viele Zwecke ist aber ein Zusatz von bestimmten Stoffen erforderlich, da sonst z. B. Phosphor, Schwefel, Arsen usw. verloren gehen. Sollen in der Asche Chlor, Schwefel oder Phosphor bestimmt werden, so ist Baryt oder Soda zuzusetzen; sollen Zink, Zinn, Blei oder Arsen bestimmt werden, so kann zweckmäßig mit konzentrierter Schwefelsäure unter Zutropfen von Salpetersäure verascht werden, ähnlich wie bei der toxikologischen Analyse. In allen übrigen Fällen ist möglichst ohne Zusatz zu arbeiten.

2. Bestimmung einzelner Mineralbestandteile.

Von den Bestandteilen der Asche sind häufig quantitativ zu bestimmen: Kalk, Magnesia, Kali, Natron, Schwefelsäure, Phosphorsäure und Chlor.

Da die Verfahren zur Bestimmung der fünf ersten Bestandteile, von denen der Kalk in essigsaurer Lösung gefällt werden muß, die üblichen sind (siehe auch unter Abschnitt Wasser), so soll nur auf die Bestimmung der Phosphorsäure und des Chlors näher eingegangen werden.

A. Bestimmung der Phosphorsäure.

Die Bestimmung der Phosphorsäure in der Asche erfolgt nach der Molybdänmethode. Die salpetersaure Lösung wird in einem Becher-

glase mit Molybdänlösung[1]) versetzt, bis die Flüssigkeit auf 0·1 *g* P_2O_5 nicht unter 50 *cm*³ Molybdänlösung enthält.

Die Mischung wird im Wasserbade auf ca. 80 bis 90° erhitzt, etwa 1 bis 2 Stunden beiseite gestellt, filtriert und der Niederschlag mit Ammonnitratlösung[2]) ausgewaschen. Das Becherglas, an dessen Wandungen noch Niederschlag anhaftet, wird unter den Trichter gestellt, der Filterrückstand mit 2½%igem Ammoniak gelöst und das Filter mit soviel Ammoniak nachgewaschen, bis das Filtrat etwa 75 *cm*³ beträgt.

Man neutralisiert das überschüssige Ammoniak annähernd mit Salzsäure, läßt erkalten und gibt auf 0·1 *g* P_2O_5 tropfenweise unter fortwährendem Umrühren 10 *cm*³ Magnesiamischung[3]) zu; man fügt noch ⅓ des Volumens Ammoniak (2½%) hinzu, läßt einige Stunden mit einer Glasplatte bedeckt stehen und filtriert den Niederschlag ab. Dieser wird mit 2½%igem Ammoniak bis zum Verschwinden der Chlorreaktion ausgewaschen, kurze Zeit an der Luft oder im Trockenraum abgetrocknet oder auch direkt in einem Platintiegel langsam getrocknet. Man erwärmt anfänglich bei bedecktem Tiegel mit kleiner Flamme, nach Verjagen der Feuchtigkeit unter Schieflegen des Tiegels etwa 10 Minuten lang stärker, bis das Filter verkohlt ist; und schließlich 5 Minuten im Gebläse, bis die Asche weißgebrannt ist.

Statt eines Papierfilters kann man sich auch vorteilhaft eines *Gooch*schen Tiegels mit Asbestfilter bedienen. Soll Phosphorsäure in einer salzsauren Lösung bestimmt werden, so muß sie vorher durch wiederholtes Eindampfen mit Salpetersäure von Salzsäure befreit werden.

Über die titrimetrische Bestimmung siehe unter *C*.

B. Bestimmung des Chlors.

Wenn nur Chlornatrium bestimmt werden soll, so kann dies in der bei möglichst niedriger Temperatur und ohne Zusatz hergestellten Asche geschehen.[4])

---

[1]) Molybdänlösung nach *Wagner-Stutzer*: 150 *g* molybdänsaures Ammon werden in möglichst wenig Wasser gelöst, 400 *g* Ammonnitrat hinzugefügt, die Flüssigkeit mit Wasser zu 1 *l* verdünnt und diese Lösung in 1 *l* Salpetersäure von 1·19 spez. Gew. langsam unter Umrühren eingegossen. Die so bereitete Lösung wird 24 Stunden bei ca. 35° C stehen gelassen und, falls ein gelber Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammon entsteht, filtriert. Der bei längerem Aufbewahren der Molybdänlösung entstehende gelbe Bodensatz besteht aus einer gelben Modifikation der Molybdänsäure.

[2]) 150 *g* Ammonnitrat werden mit 10 *cm*³ Salpetersäure (1·19 spez. Gew.) und Wasser zu 1 *l* gelöst. Statt dieser Lösung bedient man sich auch wohl einer verdünnten Molybdänlösung (1 Teil der vorstehenden Lösung + 3 Teile Wasser).

[3]) Magnesiamischung: 55 *g* kristallisiertes Chlormagnesium und 70 *g* Chlorammonium werden in 650 *cm*³ Wasser und 350 *cm*³ 10%igen Ammoniaks gelöst.

[4]) Wenn es sich aber um möglichst große Genauigkeit der Chlorbestimmung handelt, muß die Substanz vorher mit einer hinreichenden Menge (etwa 20 *cm*³ 5%iger) Natriumkarbonatlösung unter Zusatz von etwas Natronlauge eingedampft und bei möglichst niedriger Temperatur verascht werden.

Man bestimmt dann das Chlor entweder in der salpetersauren Lösung der Asche

a) gewichtsanalytisch mit Silbernitrat (die gefundene Chlorsilbermenge mit 0·2474 multipliziert ergibt die vorhandene Chlormenge) oder

b) maßanalytisch nach *J. Volhard* oder in neutraler Lösung nach *Mohr*.

C. Bestimmung der Alkalität der Asche.

Sehr häufig ist die Alkalität der Asche von Wichtigkeit, weil man daraus schließen kann, wieviel organische Salze, beziehungsweise Säuren vorhanden sind. Mit dieser Bestimmung kann man auch die titrimetrische Bestimmung der Phosphorsäure verbinden.

Die Asche wird mit überschüssiger $^1/_{10}$-Normalsalzsäure und Wasser in ein Kölbchen aus Jenaer Glas gespült, dieses wird mit einem Uhrglase bedeckt und eine Stunde lang auf dem Wasserbade erwärmt. Nach dem Erkalten wird ein Tropfen einer Methylorange- und Phenolphtaleïnlösung zugesetzt und mit $^1/_{10}$-Normalkalilauge bis zum Umschlag des Methylorange titriert. Darauf fügt man 10 cm^3 einer 40%igen neutralen Chlorkalziumlösung hinzu und titriert weiter bis zur Rötung des Phenolphtaleïns.

Die zur Neutralisierung gegen Methylorange verbrauchten Kubikzentimeter Normalsäure ergeben die Alkalität der Asche; die vom Umschlag des Methylorange bis zum Umschlag des Phenolphtaleïns verbrauchten Kubikzentimeter Normallauge, mit 47·52 multipliziert, ergeben Milligramme Phosphatrest (PO_4).

II. Untersuchung der einzelnen Nahrungsmittel.

Fleisch und Fleischpräparate.

Hierzu gehören Teile des tierischen Körpers und daraus bereitete Produkte.

Als Nahrungsmittel wird namentlich das Muskelfleisch verwendet, ferner die Leber, die Niere, das Blut, die Milz, die Thymusdrüse und das Gehirn.

Die chemischen Bestandteile des von Fett, Sehnen und Knochen möglichst befreiten Muskelfleisches sind folgende:

1. Wasser: Die Muskeln des erwachsenen Säugetieres enthalten 72—79% Wasser; embryonales Fleisch enthält bis zu 98%, das niederer Wirbeltiere, z. B. der Fische, 79—82%, das fetter Fische, z. B. Aal, nur 53% Wasser.

2. Stickstoffhaltige Verbindungen:

a) Aus der Gruppe der Proteïnstoffe: Muskelfaser mit Myosin (13—18%), Muskelalbumin, Serumalbumin, Globulin, Blutfarbstoff und Nukleïn, ferner das leimgebende Bindegewebe (2—5%);

b) die nichteiweißartigen, stickstoffhaltigen Bestandteile des Fleisches: Antipepton oder Fleischsäure, Kreatin, Kreatinin, Hypoxanthin (Sarkin), Xanthin, Karnin, Lezithin, Harnstoff, Harnsäure, Taurin, Leuzin.

3. Fett. Es findet sich auch in dem vom Fettgewebe befreiten Muskelfleische noch in Mengen von 0·5—4%.

4. Stickstofffreie Bestandteile: In der Hauptsache Glykogen (namentlich im Pferdefleisch und embryonalen Kalbfleisch) und Zucker, welcher aus dem Glykogen gebildet wird; ferner Äthylenmilchsäure, Fleischmilchsäure und geringe Mengen anderer organischer Säuren (Essigsäure, Ameisensäure und Buttersäure).

5. Mineralstoffe (etwa 1—2%): Sie bestehen größtenteils aus Kaliumphosphat, daneben aus Kalzium-, Magnesiumphosphat und Chlornatrium.

6. Gase: Das Fleisch enthält vorwiegend Kohlensäure und nur wenig Stickstoff.

Die drüsigen Organe (Leber, Niere usw.) unterscheiden sich von den Muskeln chemisch hauptsächlich durch den größeren Gehalt an Nukleïnstoffen. Das Blut ist durch einen hohen Gehalt an Blutfarbstoff charakterisiert. Reich an Blutfarbstoff und Nukleïn ist die Milz.

In den nervösen Organen findet sich in reichlicher Menge Lezithin und Cholesterin, sowie Protagon und seine Derivate die Zerebroside, neben Eiweißstoffen und anorganischen Salzen.

Das embryonale Fleisch ist durch hohen Wassergehalt und Anwesenheit von Muzin ausgezeichnet, welches den wässerigen, kalt bereiteten Auszügen fadenziehende Beschaffenheit erteilen kann.

Das Knochenmark enthält wenig Wasser (nur 6%), wenig Stickstoffsubstanz (5%) und besteht hauptsächlich aus Fett.

1. Fleisch und Fleischwaren.

Für die Bestimmung der chemischen Bestandteile wird das Fleisch mit geeigneten Maschinen zu einer möglichst feinen und vollkommen gleichmäßigen Masse zerkleinert.

Man bestimmt:

1. Das Wasser zunächst durch Vortrocknen bei ca. 50°, dann durch vollständiges Austrocknen bei 105 bis 110° bis zum gleichbleibenden Gewicht;

2. Den Stickstoff nach *Kjeldahl* (S. 105). Durch Multiplizieren der gefundenen Stickstoffmenge mit 6·25 erhält man die Stickstoffsubstanz. Da man jedoch als Gesamtsumme der einzelnen Bestandteile beim Fleisch meist eine höhere Zahl als 100 erhält, so empfiehlt es sich, den geringen Gehalt an stickstofffreien Extraktstoffen zu vernachlässigen und die Summe von Wasser, Fett und Mineralstoffen von 100 abzuziehen und als Stickstoffsubstanz anzugeben.

3. Das Fett durch Ausziehen der wasserfreien Substanz mit Äther nach S. 111: nachdem man die Masse vom größten Teil des Fettes befreit hat, verreibt man sie mit Seesand und zieht dann weiter aus.

Die Bestimmung des Fettes geschieht einfacher nach *F. Baur* und *H. Barschall.*[1])

Man schneidet von dem zu untersuchenden Fleisch Fett und Sehnen weg und gibt es viermal durch die Fleischhackmaschine. Einen Teil des so zerkleinerten Fleisches zerquetscht man weiter in einer großen Reibschale, bis es möglichst breiig geworden ist. Davon wiegt man Mengen von etwa 2 *g* ab und bringt sie in Kolben von passender Größe, in denen das Fleisch mit 20 cm^3 einer Schwefelsäure übergossen wird, welche aus 1 Vol. Schwefelsäure (spez. Gew. 1·81) und 1 Vol. Wasser besteht. Die Mischung wird auf ein Wasserbad gestellt und unter zeitweiligem Umschwenken löst sich das Fleisch in 20 bis 30 Minuten auf. Wenn keine ungelösten Teile mehr zu sehen sind, entfernt man den Kolben vom Wasserbad und verdünnt mit Wasser auf etwa 100 cm^3.

Die Fleischlösung wird in einen Scheidetrichter gegeben und mit 100 cm^3 Äther überschichtet, nachdem mit diesem vorher der Kolben, der die Fleischlösung enthielt, ausgeschwenkt worden ist, um die letzten Fetttröpfchen, welche noch an den Wandungen hängen, in den Scheidetrichter zu bringen. Dann wird tüchtig geschüttelt, wobei das Fett vom Äther aufgenommen wird.

Nach dem Absetzen trennt man die beiden Schichten, gießt den Äther in ein Becherglas und läßt ihn eine Zeitlang stehen, damit die letzten Wassertröpfchen sich am Boden des Becherglases sammeln können.

Die Ätherausschüttelung wiederholt man nochmals in gleicher Weise, aber die zweite Behandlung liefert nur noch sehr wenig Fett.

Aus dem Becherglase gießt man die Ätherlösung in ein gewogenes Destillierkölbchen und destilliert den Äther ab. Die Ausschüttelungen der Pepsinaufschlüsse sind gewöhnlich etwas trübe und müssen durch ein kleines Filter filtriert werden. Nach dem Verjagen des Äthers wird das Kölbchen mit dem Fettrückstand etwa eine halbe Stunde im Wasserdampfschrank getrocknet; man läßt darauf im Exsikkator erkalten und wiegt.

4. Die Mineralstoffe durch Veraschen nach S. 152.

5. Die Extraktivstoffe, das Bindegewebe und die Muskelfaser nach dem Verfahren von *E. Kern* und *H. Wattenberg.*[2])

A. Extraktivstoffe: Etwa 50 *g* des möglichst vom Fett befreiten und sorgfältig zerkleinerten Fleisches werden wiederholt mit kaltem Wasser ausgezogen und die Filtrate auf ein bestimmes Volumen (1000 cm^3) gebracht. Hiervon dienen abgemessene Teile zur Bestimmung der Gesamtmenge der Extraktivstoffe (durch Trocknen bei 105—110°), der

[1]) Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt. Beiträge zu den Vereinbarungen. Bd. 1. S. 187 (1911).

[2]) Journ. f. Landwirtsch. S. 549 und 610 (1878).

Mineralstoffe (nach S. 152), des Gesamtstickstoffes (nach S. 105) sowie des Eiweißstickstoffes. Zur letzten Bestimmung wird das Eiweiß durch längeres Kochen abgeschieden, auf einem gewogenen Filter gesammelt und nach dem Trocknen gewogen; das Filter mit Inhalt wird nach *Kjeldahl* verbrannt. Die Differenz zwischen Gesamtstickstoff und Eiweißstickstoff ergibt die Menge des Nichteiweißstickstoffes.

B. Das Bindegewebe wird in dem Rückstande der Kaltwasserextraktion bestimmt, welcher wiederholt längere Zeit mit Wasser gekocht wird; in abgemessenen Teilen der auf 1000 cm^3 aufgefüllten Filtrate wird der Gesamtrückstand und der Stickstoff wie unter *A* bestimmt.

Da Bindegewebe in der Regel 18% Stickstoff enthält, so berechnet man die Menge des Bindegewebes durch Multiplikation des gefundenen Stickstoffes mit 5·55.

C. Der Rückstand der Auskochung von *B* ist Muskelfaser; sie wird auf einem gewogenen Filter gesammelt, zur Entfernung des Wassers mit warmem Alkohol, zur Entfernung des Fettes mit Äther extrahiert, getrocknet, gewogen und verascht. Die Differenz zwischen dem Gesamtrückstande und der Asche ergibt die Menge der Muskulatur.

6. Bestimmung der Tierspezies:

Es kommt hauptsächlich die Unterscheidung des Pferde- und Rindfleisches in Frage, manchmal allerdings auch die Feststellung der Tierspezies überhaupt. Hierfür kommen zwei Verfahren in Anwendung, das sogenannte biologische Verfahren und das chemische Verfahren. Für die chemische Prüfung besteht eine amtliche Vorschrift, welche in den Ausführungsbestimmungen des Fleischbeschaugesetzes vom 22. Februar 1908 veröffentlicht worden ist. Die früher gebräuchliche Bestimmung des Glykogens ist als unsicher fallen gelassen worden.

A. Verfahren, welches auf der Bestimmung des Brechungsvermögens des Pferdefettes beruht.

Aus Stücken von 50 *g* möglichst mit fetthaltigem Bindegewebe durchsetztem Fleische wird das Fett durch Ausschmelzen bei 100° oder, falls dies nicht möglich ist, durch Auskochen mit Wasser gewonnen und im *Zeiß-Wollny*schen Refraktometer nach der Anweisung (im Abschnitt „Speisefette und Öle") zwischen 38 und 42° geprüft. Wenn die erhaltene Refraktometerzahl auf 40° umgerechnet den Wert 51·5 übersteigt, so ist auf die Gegenwart von Pferdefleisch zu schließen.

B. Verfahren, welches auf der Bestimmung der Jodzahl des Pferdefettes beruht.

Aus Stücken von 100 bis 200 *g*, möglichst mit fetthaltigem Bindegewebe durchsetztem Fleische wird das Fett wie beim Verfahren unter *A* gewonnen und seine Jodzahl nach der im Abschnitt „Speisefette und Öle" gegebenen Anweisung bestimmt. Die Anwesenheit von Pferdefleisch ist als erwiesen anzusehen, wenn die Jodzahl des Fettes 70 und mehr beträgt.

C. Das biologische Verfahren beruht auf der Fällung des Eiweißes aus wässeriger Lösung, wenn artgleiches Antiserum zugegeben wird. Genauere Angaben für die Ausführung finden sich bei *Uhlenhuth* und *Weidanz*: „Praktische Anleitung zur Ausführung der biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahren“. Jena 1909, Verlag Gust. Fischer.

7. Untersuchung auf gesundheitsschädliche Zusätze (Konservierungsmittel).

Für die Nahrungsmittelchemie ist von besonderer Wichtigkeit die Prüfung auf verbotene Zusätze, worunter hauptsächlich Konservierungsmittel verstanden werden, oder künstliche Farbstoffe, welche zur Färbung von Fleischwaren dienen. Die Untersuchungsverfahren sind amtlich vorgeschrieben in den Ausführungsbestimmungen zum Fleischbeschaugesetz.

Die Untersuchungen sind folgendermaßen auszuführen.

A. Nachweis von Borsäure und ihren Salzen.

50 *g* der feinzerkleinerten Fleischmasse werden in einem Becherglase mit einer Mischung von 50 cm^3 Wasser und 0·2 cm^3 Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1·124 zu einem gleichmäßigen Brei gut durchmischt. Nach halbstündigem Stehen wird das mit einem Uhrglase bedeckte Becherglas, unter zeitweiligem Umrühren, $^1/_2$ Stunde in einem siedenden Wasserbade erhitzt. Dann wird der Inhalt noch heiß auf ein Gazetuch gebracht, abgepreßt und die Flüssigkeit durch ein angefeuchtetes Filter gegossen. Das Filtrat wird nach Zusatz von Phenolphtaleïn mit $^1/_{10}$-Normalnatronlauge schwach alkalisch gemacht und bis auf 25 cm^3 eingedampft. 5 cm^3 von dieser Flüssigkeit werden mit 0·5 cm^3 Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1·124 angesäuert, filtriert und auf Borsäure mit Kurkuminpapier[1]) geprüft. Dies geschieht in der Weise, daß ein etwa 8 *cm* langer und 1 *cm* breiter Streifen geglätteten Kurkuminpapieres bis zur halben Länge mit der angesäuerten Flüssigkeit durchfeuchtet und auf einem Uhrglase von etwa 10 *cm* Durchmesser bei 60 bis 70° getrocknet wird. Zeigt das Kurkuminpapier nach dem Trocknen keine sichtbare Veränderung der ursprünglich gelben Farbe, dann enthält das Fleisch keine Borsäure. Ist dagegen eine rötliche oder orangerote Färbung entstanden, dann betupft man das Papier mit einer 2%igen Lösung von wasserfreiem Natriumkarbonat. Entsteht

[1]) Das Kurkuminpapier wird durch einmaliges Tränken von weißem Filtrierpapier mit einer Lösung von 0·1 *g* Kurkumin in 100 cm^3 90%igem Alkohol hergestellt. Das getrocknete Kurkuminpapier ist in gut verschlossenen Gefäßen, vor Licht geschützt, aufzubewahren. Das Kurkumin wird in folgender Weise hergestellt: 30 *g* feines bei 100° getrocknetes Kurkumawurzelpulver (Curcuma longa) werden im *Soxhlet*schen Extraktionsapparat zunächst 4 Stunden lang mit Petroleumäther ausgezogen. Das so entfettete und getrocknete Pulver wird alsdann in demselben Apparat mit heißem Benzol 8 bis 10 Stunden lang, unter Anwendung von 100 cm^3 Benzol, erschöpft. Zum Erhitzen des Benzols kann ein Glyzerinbad von 115 bis 120° verwendet werden. Beim Erkalten der Benzollösung scheidet sich innerhalb 12 Stunden das für die Herstellung des Kurkuminpapiers zu verwendende Kurkumin ab.

hierdurch ein rotbrauner Fleck, der sich in seiner Farbe nicht von dem rotbraunen Fleck unterscheidet, der durch die Natriumkarbonatlösung auf einem reinen Kurkuminpapier erzeugt wird, oder eine rotviolette Färbung, so enthält das Fleisch keine Borsäure. Entsteht dagegen ein blauer Fleck, so ist die Gegenwart der Borsäure nachgewiesen. Bei blauvioletten Färbungen und in Zweifelsfällen ist der Ausfall der Flammenreaktion ausschlaggebend.

Die Flammenreaktion ist in folgender Weise auszuführen: 5 *cm*³ der verbliebenen alkalischen Flüssigkeit werden in einer Platinschale zur Trockne verdampft und verascht. Zur Herstellung der Asche wird die verkohlte Substanz mit etwa 20 *cm*³ heißem Wasser ausgelaugt. Nachdem die Kohle bei kleiner Flamme vollständig verascht worden ist, fügt man die ausgelaugte Flüssigkeit hinzu und bringt sie zunächst auf dem Wasserbad, alsdann bei etwa 120° C zur Trockne. Die so erhaltene, lockere Asche wird mit einem erkalteten Gemisch von 5 *cm*³ Methylalkohol und 0·5 *cm*³ konzentrierter Schwefelsäure sorgfältig zerrieben und unter Benutzung weiterer 5 *cm*³ Methylalkohol in einen Erlenmeyerkolben von 100 *cm*³ Inhalt gebracht. Man läßt den verschlossenen Kolben unter mehrmaligem Umschütteln 1/2 Stunde lang stehen; dann wird der Methylalkohol aus einem Wasserbade von 80 bis 85° vollständig abdestilliert. Das Destillat wird in ein Gläschen von 40 *cm*³ Inhalt und etwa 6 *cm* Höhe gebracht, welches mit einem zweimal durchbohrten Stopfen verschlossen wird, durch den 2 Glasröhren in das Innere führen. Die eine Röhre reicht bis auf den Boden des Gläschens, die andere nur bis in den Hals. Das verjüngte äußere Ende dieser Röhre wird mit einer durchlochten Platinspitze, die aus Platinblech hergestellt werden kann, versehen. Durch die Flüssigkeit wird hierauf ein getrockneter Wasserstoffstrom derart geleitet, daß die angezündete Flamme 2 bis 3 *cm* lang ist. Ist die Flamme bei zerstreutem Tageslicht beobachtet, grün gefärbt, so ist Borsäure im Fleische enthalten.

B. Nachweis von Formaldehyd und solchen Stoffen, welche bei ihrer Verwendung Formaldehyd abgeben.

30 *g* der zerkleinerten Fleischmasse werden in 200 *cm*³ Wasser gleichmäßig verteilt und nach halbstündigem Stehen in einem Kolben von etwa 500 *cm*³ Inhalt mit 10 *cm*³ einer 25%igen Phosphorsäure versetzt. Von dem zum Sieden erhitzten Gemenge werden, unter Einleiten eines Wasserdampfstroms, 50 *cm*³ abdestilliert. Das Destillat wird filtriert. Bei nicht geräuchertem Fleische werden 5 *cm*³ des Destillats mit 2 *cm*³ frischer Milch und 7 *cm*³ Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1·124, welche auf 100 *cm*³ 0·2 *cm*³ einer 10%igen Eisenchloridlösung enthält, in einem geräumigen Probiergläschen gemischt und etwa 1/2 Minute lang in schwachem Sieden erhalten. Durch Vorversuche ist festzustellen, einerseits, daß die Milch frei von Formaldehyd ist, andrerseits, daß sie auf Zusatz von Formaldehyd die Reaktion gibt. Bei geräucherten Fleischwaren ist ein Teil des Destillats mit der 4fachen Menge Wasser zu verdünnen und 5 *cm*³ der Verdünnung sind in derselben Weise zu behandeln. Die Gegenwart von

Formaldehyd bewirkt Violettfärbung. Entsteht diese nicht, so bedarf es einer weiteren Prüfung nicht. Im anderen Falle wird der Rest des Destillats mit Ammoniak im Überschusse versetzt und unter zeitweiligem Zusatze geringer Mengen Ammoniakflüssigkeit so zur Trockne verdampft, daß die Flüssigkeit immer alkalische Reaktion behält. Bei Gegenwart von nicht zu geringen Mengen von Formaldehyd hinterbleiben charakteristische Krystalle von Hexamethylentetramin. Der Rückstand wird in etwa 4 Tropfen Wasser gelöst und je ein Tropfen wird auf einen Objektträger gebracht und mit den beiden folgenden Reagenzien geprüft:

1. Mit 1 Tropfen einer gesättigten Quecksilberchloridlösung. Es entsteht hierbei sofort oder nach kurzer Zeit ein regulärer, krystallinischer Niederschlag; bald sieht man drei- und mehrstrahlige Sterne, später Oktaeder;

2. mit 1 Tropfen einer Kaliumquecksilberjodidlösung und einer sehr geringen Menge verdünnter Salzsäure. Es bilden sich hexagonale sechsseitige, hellgelb gefärbte Sterne.

Die Kaliumquecksilberjodidlösung wird in folgender Weise hergestellt: Zu einer 10%igen Kaliumjodidlösung wird unter Erwärmen und Umrühren so lange Quecksilberjodid zugesetzt, bis ein Teil desselben ungelöst bleibt; die Lösung wird nach dem Erkalten abfiltriert.

In nicht geräucherten Fleischwaren ist die Gegenwart von Formaldehyd erwiesen, wenn der Rückstand die Reaktion mit Quecksilberchlorid gibt, in geräucherten Fleischwaren erst dann, wenn beide Reaktionen eintreten.

C. Nachweis von schwefliger Säure und ihren Salzen, sowie von unterschwefligsauren Salzen.

30 *g* fein zerkleinerte Fleischmasse und 5 *cm*³ 25%ige Phosphorsäure werden auf dem Boden eines Erlenmeyerkölbchens von 100 *cm*³ Inhalt durch schnelles Zusammenkneten gemischt. Hierauf wird das Kölbchen sofort mit einem Korke verschlossen. Am Grunde des Korkes ist ein Spalt, in dem ein Streifen Kaliumjodatstärkepapier so befestigt ist, daß sein unteres, etwa 1 *cm* mit Wasser befeuchtetes Ende sich ungefähr 1 *cm* über der Mitte der Fleischmasse befindet. Die Lösung zur Herstellung des Jodstärkepapiers besteht aus 0·1 *g* Kaliumjodat und 1 *g* löslicher Stärke in 100 *cm*³ Wasser.

Zeigt sich innerhalb 10 Minuten keine Bläuung des Streifens, die zuerst gewöhnlich an der Grenzlinie des feuchten und trockenen Teiles beginnt, so stellt man das Kölbchen bei etwas loserem Korkverschluß auf das Wasserbad. Entsteht auch jetzt innerhalb 10 Minuten keine vorübergehende oder bleibende Bläuung des Streifens, so läßt man das fest verschlossene Kölbchen erkalten. Macht sich auch jetzt innerhalb ½ Stunde keine Blaufärbung des Papierstreifens bemerkbar, dann ist das Fleisch als frei von schwefliger Säure zu betrachten. Bei Bläuung ist der entschei-

dende Nachweis der schwefligen Säure durch nachstehendes Verfahren zu erbringen.

a) 30 *g* der zerkleinerten Fleischmasse werden mit 200 cm^3 ausgekochtem Wasser in einem Destillierkolben von etwa 500 cm^3 Inhalt unter Zusatz von Natriumkarbonatlösung bis zur schwach alkalischen Reaktion angerührt. Nach einstündigem Stehen wird der Kolben mit einem zweimal durchbohrten Stopfen verschlossen, durch welchen zwei Glasröhren in das Innere des Kolbens führen. Die erste Röhre reicht bis auf den Boden des Kolbens, die zweite nur bis in den Hals. Diese führt zu einem *Liebig*schen Kühler und an diesen schließt sich luftdicht eine kugelig aufgeblasene U-Röhre (sogenannte *Peligot*sche Röhre) an.

Man leitet durch das bis auf den Boden des Kolbens führende Rohr Kohlensäure, bis alle Luft aus dem Apparat verdrängt ist, bringt dann in die *Peligot*sche Röhre 50 cm^3 Jodlösung (erhalten durch Auflösen von 5 *g* reinem Jod und 7·5 *g* Kaliumjodid in Wasser zu 1 *l*; die Lösung muß sulfatfrei sein), lüftet den Stopfen des Destillierkolbens und läßt, ohne das Einströmen der Kohlensäure zu unterbrechen, 10 cm^3 einer wässerigen 25%igen Lösung von Phosphorsäure einfließen. Alsdann schließt man den Stopfen wieder, erhitzt den Kolbeninhalt vorsichtig und destilliert unter stetigem Durchleiten von Kohlensäure die Hälfte der wässerigen Lösung ab. Man bringt nunmehr die Jodlösung, die noch braun gefärbt sein muß, in ein Becherglas, spült die *Peligot*sche Röhre gut mit Wasser aus, setzt etwas Salzsäure zu, erhitzt das Ganze kurze Zeit und fällt die durch Oxydation der schwefligen Säure entstandene Schwefelsäure mit Baryumchloridlösung (1 Teil kristallisiertes Baryumchlorid in 10 Teilen destilliertem Wasser gelöst). Im vorliegenden Falle ist eine Wägung des Niederschlags nicht unbedingt erforderlich. Liegt jedoch ein besonderer Anlaß dazu vor, so läßt man ihn absetzen und prüft durch Zusatz eines Tropfens Baryumchloridlösung zu der überstehenden Flüssigkeit, ob die Schwefelsäure vollständig ausgefällt ist. Hierauf kocht man das Ganze nochmals auf, läßt 6 Stunden in der Wärme stehen, gießt die klare Flüssigkeit durch ein Filter von bekanntem Aschengehalt, wäscht den Niederschlag im Becherglase wiederholt mit heißem Wasser aus, indem man jedesmal absetzen läßt und die klare Flüssigkeit durch das Filter gibt, bringt zuletzt den Niederschlag auf das Filter und wäscht so lange mit heißem Wasser, bis das Filtrat mit Silbernitrat keine Trübung mehr erzeugt. Filter und Niederschlag werden getrocknet, in einem gewogenen Platintiegel verascht und geglüht; hierauf befeuchtet man den Tiegelinhalt mit wenig Schwefelsäure, raucht diese ab, glüht schwach, läßt im Exsikkator erkalten und wägt.

Ergab die Prüfung ein positives Ergebnis, so ist das Fleisch als mit schwefliger Säure, schwefligsauren Salzen oder unterschwefligsauren Salzen behandelt zu betrachten. Liegt ein Anlaß vor, zu ermitteln, ob die schweflige Säure unterschwefligsauren Salzen entstammt, so ist in folgender Weise zu verfahren:

b) 50 *g* der zerkleinerten Fleischmasse werden mit 200 *cm*³ Wasser und etwas Natriumkarbonatlösung bei schwach alkalischer Reaktion unter wiederholtem Umrühren in einem Becherglase eine Stunde ausgelaugt. Nach dem Abpressen wird der Auszug filtriert, mit Salzsäure stark angesäuert und unter Zusatz von 5 *g* reinem Natriumchlorid aufgekocht. Der Niederschlag wird abfiltriert und so lange ausgewaschen, bis im Waschwasser weder schweflige Säure noch Schwefelsäure nachweisbar sind. Dann löst man den Niederschlag in 25 *cm*³ 5%iger Natronlauge, fügt 50 *cm*³ gesättigtes Bromwasser hinzu und erhitzt bis zum Sieden. Nun wird mit Salzsäure angesäuert und filtriert. Das vollkommen klare Filtrat gibt bei Gegenwart von unterschwefligsauren Salzen im Fleische auf Zusatz von Baryumchloridlösung sofort eine Fällung von Baryumsulfat.

D. Nachweis von Fluorwasserstoff und seinen Salzen.

25 *g* der zerkleinerten Fleischmasse werden in einer Platinschale mit einer hinreichenden Menge Kalkmilch durchgeknetet. Dann trocknet man, verascht und gibt den Rückstand nach dem Zerreiben in einen Platintiegel, befeuchtet das Pulver mit etwa 3 Tropfen Wasser und fügt 1 *cm*³ konzentrierte Schwefelsäure hinzu. Dann wird der Tiegel zum Erhitzen auf eine Asbestplatte gestellt und mit einem großen Uhrglase bedeckt, das auf der Unterseite in bekannter Weise mit Wachs überzogen und beschrieben ist. Um das Schmelzen des Wachses zu verhüten, wird in das Uhrglas ein Stückchen Eis gelegt.

Sobald das Glas sich an den beschriebenen Stellen angeätzt zeigt, ist der Nachweis von Fluorwasserstoff im Fleische als erbracht anzusehen.

E. Nachweis von Salizylsäure und ihren Verbindungen.

50 *g* der fein zerkleinerten Fleischmasse werden in einem Becherglase mit 50 *cm*³ einer 2%igen Natriumkarbonatlösung zu einem gleichmäßigen Brei gut durchmischt und 1/2 Stunde lang kalt ausgelaugt. Dann setzt man das mit einem Uhrglase bedeckte Becherglas 1/2 Stunde lang unter zeitweiligem Umrühren in ein siedendes Wasserbad. Der Inhalt wird heiß auf ein Gazetuch gebracht und abgepreßt. Die abgepreßte Flüssigkeit wird mit 5 *g* Chlornatrium versetzt und nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure zum beginnenden Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten wird filtriert und das klare Filtrat im Schütteltrichter mit einem gleichen Raumteil einer Mischung von gleichen Teilen Äther und Petroleumäther kräftig ausgeschüttelt. Sollte sich hierbei eine Emulsion bilden, so entfernt man zunächst die untere klar abgeschiedene wässerige Flüssigkeit und schüttelt den Rest unter Zusatz von 5 *g* pulverisiertem Natriumchlorid nochmals mäßig durch, worauf sich nach einiger Zeit genügend Äther abscheidet. Dieser wird zweimal mit je 5 *cm*³ Wasser gewaschen durch ein trockenes Filter gegossen und in einer Porzellanschale unter Zusatz von etwa 1 *cm*³ Wasser bei mäßiger Wärme und mit Hilfe eines Luftstromes verdunstet. Der wässerige Rückstand wird nach dem Erkalten

mit einigen Tropfen einer frisch bereiteten 0·05%igen Eisenchloridlösung versetzt. Eine deutliche Blauviolettfärbung zeigt Salizylsäure an.

F. Nachweis von chlorsauren Salzen.

30 *g* der zerkleinerten Fleischmasse werden mit 100 *cm*³ Wasser eine Stunde lang kalt ausgelaugt und zum Kochen erhitzt. Nach dem Erkalten wird die wässerige Flüssigkeit abfiltriert und mit Silbernitratlösung im Überschusse versetzt. 25 *cm*³ der abfiltrierten, klaren Flüssigkeit werden mit 1 *cm*³ einer 10%igen Lösung von schwefligsaurem Natrium und 1 *cm*³ konzentrierter Salpetersäure versetzt und bis zum Kochen erhitzt. Ein Niederschlag, der sich auf erneuten Zusatz von kochendem Wasser nicht löst, besteht aus Chlorsilber und zeigt die Gegenwart chlorsaurer Salze an.

G. Nachweis von Farbstoffen oder Farbstoffzubereitungen.

50 *g* der zerkleinerten Fleischmasse werden in einem Becherglase mit einer Lösung von 5 *g* Natriumsalizylat in 100 *cm*³ eines Gemisches aus gleichen Teilen Wasser und Glyzerin gut durchgemischt und ½ Stunde lang unter zeitweiligem Umrühren im Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten wird die Flüssigkeit abgepreßt und filtriert, bis sie klar abläuft. Ist das Filtrat nur gelblich und nicht rötlich gefärbt, so bedarf es einer weiteren Prüfung nicht. Im anderen Falle bringt man den dritten Teil der Flüssigkeit in einen Glaszylinder, setzt einige Tropfen Alaunlösung und Ammoniak in geringem Überschusse hinzu und läßt einige Stunden stehen. Karmin wird durch einen rot gefärbten Bodensatz erkannt. Zum Nachweise von Teerfarbstoffen wird der Rest des Filtrates mit einem Faden ungebeizter, entfetteter Wolle unter Zusatz von 10 *cm*³ einer 10%igen Kaliumbisulfatlösung und einigen Tropfen Essigsäure längere Zeit im kochenden Wasserbad erhitzt. Bei Gegenwart von Teerfarbstoffen wird der Faden rot gefärbt und behält die Färbung auch nach dem Auswaschen mit Wasser.

H. Nachweis von Benzoësäure.

Nach *K. Fischer* und *O. Grünert*[1]) werden 50 *g* Fleisch mit 100 *cm*³ 50%igem Alkohol gemischt, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und 1 Stunde ausgezogen. Man preßt die Flüssigkeit durch ein Gazetuch ab, macht alkalisch und erwärmt, bis der Alkohol verdunstet ist. Dann wird mit 5 *g* Kochsalz versetzt, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und aufgekocht.

Das Filtrat wird mit Äther ausgeschüttelt, der Äther mit Wasser gewaschen und verdunstet. Der Rückstand wird mit Kalilauge neutralisiert und mit Natriumazetat und Eisenchlorid versetzt; ein rötlichgelber Niederschlag zeigt Benzoësäure an. Oder man löst den Ätherrückstand in Wasser, macht mit Ammoniak alkalisch, verdampft zur Trockene und sublimiert die Benzoësäure durch Auflegen eines gekühlten Uhrglases. Auf diese Weise erhält man die Benzoësäure rein.

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. S. 721 (1909).

Man kann den Ätherrückstand auch mit Ammoniak eindampfen und genau den Neutralpunkt mit Lackmuspapier feststellen; sobald dieser erreicht ist, wird mit verdünnter Eisenchloridlösung, wie vorher, geprüft.

Ferner gelingt der Nachweis, wenn man den Ätherrückstand mit 2 Tropfen 50%iger Ameisensäure mischt und Kalkmilch zusetzt; verdampft man zur Trockene und erhitzt den Rückstand vorsichtig in einem Reagenzglase, so tritt der bekannte Geruch nach Bittermandelöl auf (Salizylsäure stört nicht).

Man kann den Ätherrückstand auch mit Alkohol aufnehmen und nach Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure im Reagenzglase kochen. Es entsteht Benzoësäureäthyläther, welcher sehr charakteristisch riecht und mit Äther ausgeschüttelt werden kann.

8. Bestimmung der Stärke:

Vielfach wird zur Verfälschung oder als Bindemittel Stärke verwendet, deren quantitative Bestimmung nach S. 148 (Verfahren nach *J. Mayrhofer*) erfolgt. Von der gefundenen Menge zieht man 0·5% für Gewürzstärke ab, falls es sich um gewürzte Waren handelt.

2. Fleischextrakte und Fleischpeptone.

Für die Analyse[1]) werden, falls sie in kaltem Wasser fast völlig löslich sind, von festen und sirupösen Präparaten 10—20 *g*, von flüssigen 25—50 *g* in kaltem Wasser gelöst, filtriert und auf 500 *cm*³ aufgefüllt.

Entsprechende Mengen dieser Lösung dienen zur Bestimmung der einzelnen Bestandteile. Für die Bestimmung des Gesamtstickstoffes der Mineralstoffe und des Wassers verwendet man die ursprüngliche Substanz.

1. Bestimmung des Wassers.

Man trocknet unter Zusatz von Sand so viel von der ursprünglichen Substanz, als 1—2 *g* Trockensubstanz entspricht. Man löst zur besseren Verteilung in Wasser und verfährt im übrigen nach S. 102 der allgemeinen Untersuchungsmethoden.

2. Bestimmung des Gesamtstickstoffes und seiner einzelnen Verbindungsformen.

A. Bestimmung des Gesamtstickstoffes.

In so viel der ursprünglichen Substanz, als höchstens 1 *g* Trockensubstanz entspricht, wird der Gesamtstickstoff nach *Kjeldahl* bestimmt.

Bei ungleichmäßigen Gemischen verfährt man zur Erzielung einer besseren Durchschnittsprobe nach S. 105, Abs. 6.

B. Stickstoff in Form von unlöslichem und löslichem Eiweiß (Albumin).

Man löst von festen oder sirupösen Präparaten 10—20 *g* in kaltem Wasser oder verdünnt von flüssigen Präparaten 25—50 *g* mit etwa 100 bis 200 *cm*³ kaltem Wasser und trennt das Unlösliche durch Filtrieren vom

[1]) Nach *J. König, Stutzer* une *Bömer,* Vereinbarungen.

Gelösten, wäscht mit kaltem Wasser aus und verbrennt das Filter mit Inhalt nach *Kjeldahl*. Die gefundene Stickstoffmenge, von der die des Filters abzuziehen ist, wird mit 6·25 multipliziert und ergibt die Menge der unlöslichen Eiweißstoffe.

Ob Muskelfasern vorliegen, zeigt die mikroskopische Untersuchung.

Das Filtrat wird mit Essigsäure schwach angesäuert und gekocht. Scheidet sich hierbei Eiweiß (Albumin) in Flocken ab, so wird es abfiltriert, mit heißem Wasser gewaschen und nach *Kjeldahl* verbrannt; die gefundene Stickstoffmenge, abzüglich des Filterstickstoffes, mit 6·25 multipliziert, ergibt die Menge des koagulierbaren Eiweißes (Albumin). Das Filtrat wird auf 500 *cm*³ aufgefüllt.

Wenn die Fleischpräparate nur geringe Mengen unlöslichen und gerinnbaren Eiweißes enthalten, so ist eine Trennung nicht erforderlich.

C. Bestimmung des Albumosenstickstoffes.

Zur Bestimmung der Albumosen (einschließlich des Leimes) verwendet man 50 *cm*³ des Filtrates der Albuminfällung.

Sie werden nach *A. Bömer*[1]) mit Schwefelsäure schwach angesäuert (um das Ausfallen von unlöslichen Zinksalzen zu verhindern) und mit feingepulvertem Zinksulfat in der Kälte gesättigt. Sobald sich die Albumosen ausgeschieden haben, wird filtriert, der Rückstand mit kaltgesättigter Zinksulfatlösung nachgewaschen und nach *Kjeldahl* verbrannt. Durch Multiplizieren der gefundenen Stickstoffmenge, abzüglich des Filterstickstoffes, mit 6·25 erhält man die Albumosen. Fleischpeptone und -Extrakte enthalten in der Regel nur wenig Ammoniakstickstoff, und da geringe Mengen von Ammoniaksalzen in einer gesättigten Lösung von Zinksulfat keine unlöslichen Doppelsalze von Ammoniaksulfat mit Zinksulfat bilden, so kann von einer besonderen Bestimmung des Ammoniakstickstoffes abgesehen werden.

Sind dagegen nennenswerte Mengen Ammoniak vorhanden, so müssen weitere 50 *cm*³ der Lösung in derselben Weise mit Zinksulfat gefällt werden; in dem Niederschlag wird nach *F* der Ammoniakstickstoff bestimmt und dieser von dem Stickstoff des Zinksulfatniederschlages abgezogen.

D. Bestimmung des Pepton- und Fleischbasenstickstoffes.

Enthalten die Fleischpräparate neben Pepton auch Fleischbasen, so ist eine Trennung bis jetzt unmöglich; wenn aber die qualitative Reaktion die Abwesenheit von Pepton ergeben hat oder die Peptone frei von Fleischbasen und anderen Alkaloiden sind, so fällt und bestimmt man die Peptone oder Fleischbasen am besten durch Phosphorwolfram- oder Phosphormolybdänsäure.

Für den qualitativen Nachweis von Pepton empfiehlt sich die Biuretreaktion nach *R. Neumeister*.[2])

Das Filtrat der Zinksulfatlösung wird mit so viel konzentrierter Natronlauge vermischt, bis sich das ausscheidende Zinkhydroxyd wieder

[1]) Zeitschr. f. anal. Chemie. Bd. **34**. S. 562 (1895).

[2]) Zeitschr. f. Biol. (N. F.) Bd. 8. S. 324 (1890).

vollständig gelöst hat: gibt man nun zu der klaren Lösung einige Tropfen einer 1%igen Lösung von Kupfersulfat, so zeigt eine rotviolette Färbung Pepton an.

Bei dunkelgefärbten Präparaten (*Liebigs* Fleischextrakt) können sich, wegen der unerläßlichen Verdünnung, geringe Mengen von Pepton dem Nachweis entziehen.

Für den qualitativen Nachweis von Fleischbasen neben Pepton versetzt man einen Teil der wässerigen, filtrierten Lösung mit überschüssigem Ammoniak bis zur deutlich alkalischen Reaktion, filtriert von dem Niederschlage (Phosphate) ab und gibt zum Filtrat eine Lösung von salpetersaurem Silber (etwa 2·5 *g* Silbernitrat in 100 cm^3 Wasser). Der Niederschlag enthält die Silberverbindung der Xanthinbasen und beweist indirekt die Anwesenheit von Fleischbasen.[1])

Die quantitative Bestimmung der Peptone und Fleischbasen geschieht in folgender Weise:

Das Filtrat der Zinksulfatfällung wird mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit einer Lösung von phosphorwolframsaurem Natrium[2]), zu der man auf 3 Raumteile 1 Raumteil verdünnte Schwefelsäure (1 : 3) fügt, so lange versetzt, als noch ein Niederschlag entsteht. Dieser wird durch ein Filter von bekanntem Stickstoffgehalt filtriert, mit verdünnter Schwefelsäure (1 : 3) ausgewaschen und sein Stickstoffgehalt nach *Kjeldahl* ermittelt. Durch Multiplizieren des gefundenen Stickstoffes mit 6·25 erhält man die entsprechende Menge Pepton.

Sind neben Pepton Fleischbasen oder sind Fleischbasen allein zugegen, so kann der Gehalt an Pepton + Fleischbasen, bzw. der Fleischbasen allein wegen ihres hohen Stickstoffgehaltes nicht durch Multiplizieren des Stickstoffes mit 6·25 berechnet werden. Es empfiehlt sich in solchen Fällen nur zu sagen „in Form von Pepton + Fleischbasen und eventuell von Ammoniak vorhandene Stickstoffmenge".

Statt Fleischbasen und Pepton im Filtrat der Zinksulfatfällung zu bestimmen, kann man sie auch zugleich mit den Albumosen mit Phosphorwolframsäure fällen. Von dem Ergebnis ist der Albumosenstickstoff in Abzug zu bringen und der Rest als Pepton + Fleischbasenstickstoff zu bezeichnen.

Ein Teil der Fleischbasen wird durch Phosphorwolframsäure sehr langsam gefällt; man muß daher einige Tage warten, bis alles ausgefällt ist.

Da durch Phosphorwolframsäure auch der Ammoniakstickstoff gefällt wird, so ist bei der Berechnung des Pepton + Fleischbasenstickstoffes der nach *F* gefundene Ammoniakstickstoff in Abzug zu

[1]) Eigentlich nur die Anwesenheit von Hypoxanthin und Xanthin. Weil diese aber in allen Fleischsorten und Fleischerzeugnissen in geringerer Menge vorkommen als Kreatin und Kreatinin etc., und diese stets begleiten, so kann aus dem Niederschlage auch auf die Anwesenheit der anderen Fleischbasen geschlossen werden.

[2]) 120 *g* phosphorsaures Natrium und 200 *g* wolframsaures Natrium werden in 1 *l* Wasser gelöst.

bringen, oder man bestimmt in einer zweiten Phosphorwolframsäurefällung den Ammoniakstickstoff durch Destillation mit Magnesia.

E. Ermittlung von Kreatin und Kreatinin:

Dies kann mittelst der Reaktion von *Jaffe*[1]) in Fleischextrakten und Peptonen kolorimetrisch quantitativ bestimmt werden.

F. Bestimmung des Ammoniakstickstoffes:

Manche Fleischextrakte liefern bei der Destillation mit Magnesia oder mit Baryumkarbonat nicht unbedeutende Mengen Ammoniak. Ob dies als Ammoniaksalz fertig gebildet vorhanden ist oder aus anderen organischen Verbindungen erst bei der Destillation abgespalten wird, muß noch dahingestellt bleiben. Man verfährt wie folgt: 100 cm^3 der Fleischextraktlösung werden mit etwa 100 cm^3 Wasser verdünnt und hieraus das Ammoniak durch Magnesia oder Baryumkarbonat ausgetrieben.

G. Aus der Differenz des Gesamtstickstoffes und der Summe des unter *B* bis *E* bestimmten Stickstoffes ergibt sich der Gehalt des Präparates an „sonstigen Stickstoffverbindungen".

H. Bestimmung des Leimstickstoffes:

Enthält das zu untersuchende Präparat Leim, so findet man ihn nach den vorstehenden Verfahren als Albumose.

Eine Trennung des Leims von den Albumosen oder des Leimpeptons von den Eiweißpeptonen ist mit einiger Genauigkeit nicht möglich. *A. Stutzer*[2]) hat für den Zweck ein Verfahren angegeben, auf welches verwiesen werden soll.

3. Bestimmung des Fettes.

In Fleischextrakten, welche sich in Wasser klar lösen, ist kein Fett vorhanden und seine Bestimmung deshalb nicht erforderlich. Enthalten die Fleischextrakte jedoch Fett, so bestimmt man es durch Extrahieren des nach 2 *B* erhaltenen, getrockneten Niederschlages mit Äther und Verdunsten der ätherischen Lösung in einem gewogenen Kölbchen.

4. Bestimmung von Zucker und Dextrin in Suppenwürzen.

Diese erfolgt in der wässerigen Lösung nach S. 114 und 113 der allgemeinen Untersuchungsmethoden.

5. Bestimmung der Mineralstoffe.

Zur Ermittlung der Asche verfährt man nach S. 152.

6. Bestimmung des Alkoholextraktes.

J. v. Liebig verwendet für die Beurteilung des Fleischextraktes die Bestimmung des Alkoholextraktes und verfährt in folgender Weise:

2 *g* Extrakt werden in einem Becherglase abgewogen, in 90 cm^3 Wasser gelöst und darauf mit 50 cm^3 Weingeist von 93 Vol.-% versetzt. Der Niederschlag setzt sich fest am Glase an, worauf der klare Weingeist

[1]) Zeitschr. f. Physiol. Bd. **10**. S. 399 (1886) und Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. S. 562 (1906).

[2]) Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. **34**. S. 568 (1895).

in eine gewogene Schale abgegossen werden kann. Der Niederschlag wird mit 50 cm^3 Weingeist von 80 Vol.-% ausgewaschen: dieser wird zu dem ersten Auszuge gegeben, im Wasserbade bei 70° verdampft und der Rückstand 6 Stunden bei 100° getrocknet.

H. Röttger[1]) bemerkt hierzu, daß einmaliges Auswaschen mit 50 cm^3 Alkohol und 6stündiges Trocknen nicht genügen. Man soll daher öfters, mindestens dreimal, mit Weingeist von 80 Vol.-% nachwaschen und bis zur Gewichtskonstanz trocknen, die häufig erst durch 35—40stündiges Trocknen bei 100° erzielt wird.

Eier.

Als Nahrungsmittel kommen im allgemeinen nur Hühnereier in Betracht, deren Schwere zwischen 40 und 70 *g* schwankt.

Das Ei besteht aus der Schale, dem Eiereiweiß und dem Eigelb. Durchschnittlich besteht ein Ei aus 12% Schale, 58% Eiweiß, 30% Eigelb.

Die Schale besteht hauptsächlich aus kohlensaurem Kalk, ferner geringen Mengen von Magnesiumkarbonat und Erdphosphaten und etwas organischer Substanz, welche die Schalenhaut bildet.

Das Eiereiweiß enthält 84·7—86·4% Wasser, 0·3—0·8% Mineralstoffe, 12—13·5% Stickstoffsubstanz. Außerdem enthält es Fett, Lezithin, Cholesterin. Den Hauptbestandteil bilden die Stickstoffsubstanzen, das Eieralbumin, das Eierglobulin und Eimukoid.

In den Mineralbestandteilen des Eiweiß ist besonders der hohe Gehalt an Kali, Natron, Eisen, Kieselsäure und Phosphorsäure hervorzuheben.

Das Eigelb ist von einem dünnen Häutchen umgeben. Es ist undurchsichtig, gelb gefärbt und im Gegensatz zum Eiweiß nur zum Teil in Wasser löslich. Es enthält 47·2—53·8% Wasser, 0·53—1·65% Mineralbestandteile, 15·7—17·5% Stickstoffsubstanzen, 28·7—36·2% Fett. Die Stickstoffsubstanz besteht hauptsächlich aus Vitellin, außerdem aus Lezithalbumin, welches in siedendem Alkohol löslich ist.

Der in Äther lösliche Teil des Eigelbs enthält die Fette, ferner Lezithin, Cholesterin, Glyzerinphosphorsäure und Farbstoffe. Die Zusammensetzung des Eidotters ist nach *M. Gobley*:

Wasser	51·8%
Vitellin	15·8%
Nukleïn	1·5%
Fett	20·3%
Cholesterin	0·4%

[1]) Bericht über die 8. Versammlung der freien Vereinigung bayr. Vertreter der angewandten Chemie in Würzburg. S. 99 (1889).

Glyzerinphosphorsäure	1·2%
Lezithin	7·2%
Cerebrin	0·3%
Farbstoffe	0·5%
Salze	1·0%

Die Mineralbestandteile des Eigelbs bestehen in der Hauptsache aus Phosphorsäure, ferner Natron, Kali, Kalk, Magnesia, Eisen. Da die Phosphorsäure 63·8—66·7% der Asche ausmacht, so reagiert diese sauer.

Zur Prüfung der Eier auf Frische benutzt man das Durchleuchtungsverfahren und die Bestimmung des spezifischen Gewichtes, welches bei frischen Eiern 1·0784—1·0942 beträgt, bei 3 Wochen alten ungefähr 1·05. Die Güte wird mit dem Geruch geprüft.

Getrocknetes Eiweiß: Der Wassergehalt, Aschengehalt, Stickstoffgehalt und Fettgehalt wird nach den allgemeinen Bestimmungsmethoden geprüft. Die unlöslichen Bestandteile werden durch Abfiltrieren von dem Gelösten getrennt und gewogen. Zur Prüfung auf Fibrin kocht man 0·1 *g* Eiweiß mit 10 cm^3 30%iger Essigsäure 5 Minuten lang; ist kein Fibrin zugegen, so erfolgt völlige Lösung und auch auf Zusatz von 20 cm^3 Wasser oder Weingeist wird nichts abgeschieden.

Verfälschungsmittel, wie Gummi, Dextrin, Gelatine usw., werden durch die Jodabsorption nachgewiesen. Zu diesem Zwecke übergießt man nach *H. Röttger*[1]) 1 *g* der lufttrockenen Substanz in einer Literflasche mit eingeriebenem Stöpsel mit 50 cm^3 Wasser und fügt nach dem Auflösen (nach 5—6 Stunden) ohne vorherige Filtration so viel Jodjodkaliumlösung hinzu, wie genau 20 cm^3 $^1/_{10}$-Normal-Natriumthiosulfatlösung entspricht. Nach 3tägigem Stehen dieser Mischung sollen beim Titrieren, unter Zusatz von 500 cm^3 Wasser und Stärkekleister als Indikator, nicht mehr als 11 cm^3 und nicht weniger als 6·5 cm^3 $^1/_{10}$-Normal-Natriumthiosulfatlösung verbraucht werden. 11 cm^3 entsprechen einer Jodabsorptionszahl von rund 110; 6·5 cm^3 einer solchen von rund 170. Die erhaltenen Werte sind auf wasserhaltige und wasserfreie Substanz zu berechnen.

Eigelb kommt ebenfalls in Konservenform im Handel vor. Es wird nach den allgemeinen Bestimmungsmethoden untersucht, wobei zum Aufsaugen flüssiger Konserven Gips verwendet wird. Auf Konservierungsmittel wird geprüft wie unter Fleisch S. 159.

Über den Nachweis von Eigelb in Backwaren und dergleichen siehe dort.

Milch.

Milch ist die in den Brustdrüsen der weiblichen Säugetiere nach einem Geburtsakte längere Zeit sich absondernde, durch regelmäßiges und vollständiges Ausmelken gewonnene Flüssigkeit. Die ausgedehnteste

[1]) *H. Röttger*, Lehrb. d. Nahrungsmittelchemie, 1910.

Verwendung findet die Kuhmilch, weshalb hier unter „Milch“ immer nur Kuhmilch gemeint ist.

Die Milch hat den Charakter einer Emulsion und enthält als Hauptbestandteile: Wasser, eiweißartige Stoffe (Kasein, Laktoglobulin, Albumin, Nukleon, Lezithin), Milchfett, Milchzucker und Mineralstoffe.

Die durchschnittliche mittlere Zusammensetzung der Tagesmilch größerer Kuhherden beträgt für Deutschland:

	Mittel	Grenzen der Schwankungen
Wasser	87·75%	86·0—89·5%
Fett	3·40%	2·5—4·5%
Stickstoffsubstanz	3·50%	3·0—4·0%
Milchzucker	4·60%	3·6—5·5%
Mineralbestandteile	0·75%	0·6—0·9%

Dieser mittleren Zusammensetzung entspricht ein spezifisches Gewicht von 1·0315 bei 15°. Das Gewichtsverhältnis des Fettes zu den eiweißartigen Stoffen ist 100:103. Die Trockensubstanz beträgt im Mittel 12·25% und enthält bei einem spezifischen Gewicht von 1·333 im Mittel 27·75% Fett; die fettfreie Trockensubstanz beträgt im Mittel 8·85% und hat für alle Sorten von Kuhmilch sehr annähernd das gleichbleibende spezifische Gewicht von 1·6 bei 15°.

1. Bestimmung des spezifischen Gewichtes.

Es wird bei 15° vermittelst besonderer Laktodensimeter oder mit der *Mohr*schen Wage bestimmt.

Für die Bestimmung des spezifischen Gewichtes des Milchserums scheidet man das Kasein (nicht Albumin) durch Zusatz von Essigsäure bei 40° ab (2 *cm*³ 20%ige Essigsäure auf 100 *cm*³ Milch). Dann läßt man erkalten, filtriert und bestimmt das spezifische Gewicht vermittelst besonderer Laktodensimeter oder wie oben nach *Mohr*.

Mitunter ist es schwer, auf diese Weise ein klares Filtrat zu erzielen.

Ein gutes und schnelles Verfahren ist von *Pfyl* und *Turnau*[1]) angegeben, die folgendermaßen vorgehen:

50 *cm*³ Milch werden mit 5 *cm*³ Tetrachlorkohlenstoff in einer Stöpselflasche 5—10 Minuten gut durchgeschüttelt, mit 1 *cm*³ einer 20%igen Essigsäure versetzt, nochmals einige Minuten geschüttelt und zentrifugiert.

Die über dem Kuchen sich abscheidende Flüssigkeit ist klar, und wo eine Zentrifuge nicht zur Verfügung steht, kann das Koagulum ohne Schwierigkeit durch Filtrieren von dem Serum abgetrennt werden.

Bei Kolostrum oder bei Milch kranker Tiere kann die doppelte Menge Essigsäure erforderlich werden. Bei der Messung der Lichtbrechung ist der vermehrte Essigsäurezusatz durch Abzug von 0·2 Refraktometergraden zu berücksichtigen.

---

[1]) Arb. a. d. kaiserl. Ges.-Amt. Bd. **40**. S. 245 (1912).

Der Tetrachlorkohlenstoff muß rein sein. Insbesondere darf er bei längerem Schütteln mit Wasser und nachfolgendem Zentrifugieren oder Filtrieren die Lichtbrechung des Wassers höchstens um 0·2 Refraktometergrade ändern.

2. Bestimmung des Fettes.

Diese führt man gewichtsanalytisch nach *Adams* aus, wobei man 10—12 *g* Milch aus einer gewogenen und später zurückzuwägenden Spritzflasche auf einen horizontal ausgespannten, 56 *cm* langen und 6·5 *cm* breiten, vorher mit Äther extrahierten Filtrierpapierstreifen aufspritzt. Nachdem der Streifen lufttrocken geworden ist, rollt man ihn zusammen, trocknet im Wassertrockenschrank und extrahiert das Fett mit Äther im *Soxhlet*schen Apparat.

Gewöhnlich werden aber Schnellmethoden angewandt, von denen die von *Gerber* und *Röse-Gottlieb-Farnsteiner* die üblichen sind.

Nach *Gerber* bringt man 10 cm^3 reine Schwefelsäure (S = 1·81) in ein sogenanntes Butyrometer. Es sind dies besonders konstruierte Glasröhren, welche an einer Seite geschlossen, verjüngt und graduiert sind. Dann werden 11 cm^3 Milch vorsichtig darüber geschichtet und dazu wird 1 cm^3 Amylalkohol (S = 0·815) gegeben; das Röhrchen wird mit einem Gummistopfen fest verschlossen und der Inhalt durch Schütteln gut durchmischt, bis sich alles Kaseïn aufgelöst hat. Schließlich wird zentrifugiert und das Röhrchen in ein Wasserbad von 60—70° gelegt. Nach dem Herausnehmen wird die Fettschicht an der graduierten Skala abgelesen.

Zur Bestimmung nach *Röse-Gottlieb-Farnsteiner* werden 10 cm^3 Milch in ein *Röse-Gottlieb*sches Schüttelrohr gebracht und der Reihe nach 2·0 cm^3 10%igen Ammoniaks, 10 cm^3 absoluten Alkohols, 25 cm^3 Äther und 25 cm^3 Petroläther zugesetzt und jedesmal gut durchgeschüttelt. Man läßt dann einige Stunden stehen und kann das Volumen der Ätherschicht an der Skala ablesen. Ein abgemessener Teil wird mittelst Pipette in ein gewogenes Kölbchen gebracht, der Äther verdunstet, der Rückstand 1 Stunde bei 100° getrocknet und gewogen. Die gefundene Menge wird auf die gesamte Ätherfettlösung umgerechnet, und das Ergebnis gibt dann an, wie viel Fett in 10 cm^3 Milch enthalten ist.

Geronnene Milch wird ebenso geprüft, nur wird sie vorher mit dem 10ten Teil ihres Gewichtes an Ammoniak (S = 0·91) versetzt und bis zur völligen Wiederaufquellung des ausgeschiedenen Kaseïns geschüttelt. Das Ergebnis wird mit 1·1 vervielfältigt.

3. Bestimmung der Trockensubstanz.

Hierfür werden 2—3 *g* Milch in einer flachen Schale abgewogen und im Wassertrockenschrank bis zum gleichbleibenden Gewicht eingetrocknet und gewogen. Bei größeren Mengen ist es notwendig, Seesand zuzufügen.

Die Trockenmasse t kann auch nach der *Fleischmann*schen Formel aus dem spezifischen Gewicht (s) und dem Fettgehalt (f) berechnet werden.

$$t = 1{\cdot}2\,f + 2{\cdot}665\,\frac{100\,s - 100}{s}$$ oder nach der Formel von *Halenke* und *Möslinger*

$$t = \frac{f + \frac{s}{5}}{0{\cdot}8} \quad s = 5\,(0{\cdot}8\,t - f).$$

Die fettfreie Trockensubstanz erhält man aus der Gesamttrockensubstanz nach Abzug des Fettgehaltes.

Das spezifische Gewicht der Trockensubstanz (m) berechnet sich nach der Formel

$$m = \frac{t\,s}{t\,s - 100\,s + 100}$$

4. Bestimmung der Mineralstoffe.

10 *g* Milch werden in einer gewogenen Platinschale auf dem Wasserbade zur Trockene verdampft und nach S. 152 der allgemeinen Untersuchungsmethoden verascht.

5. Bestimmung der Gesamteiweißstoffe.

Nach *Kjeldahl* unter Verwendung von 15—20 *g* Milch und 20 *cm*³ Schwefelsäure. Der gefundene Stickstoff wird mit dem Faktor 6·37 vervielfältigt.

Nach *Ritthausen*[1]) (Gesamteiweiß). 25 *g* Milch werden mit 400 *cm*³ Wasser verdünnt, mit 10 *cm*³ *Fehling*scher Kupfersulfatlösung und mit 6·5—7·5 *cm*³ einer Kali- oder Natronlauge versetzt, welche 14·2 *g* KOH oder 10·2 *g* NaOH im Liter enthält. Die Flüssigkeit muß nach dem Absetzen des Niederschlages ganz schwach sauer oder neutral sein, darf aber keinesfalls alkalisch reagieren. Nach dem Absitzen wird die Flüssigkeit durch ein Filter von bekanntem Stickstoffgehalt filtriert, der Niederschlag einige Male mit Wasser durch Abgießen gewaschen, dann aufs Filter gebracht, mit Wasser ausgewaschen und mit dem Filter nach *Kjeldahl* verbrannt. Von dem gefundenen Stickstoff wird der Gehalt des Filters abgezogen und die Stickstoffsubstanz durch Vervielfältigen mit 6·37 berechnet.

Zur Gewinnung des Kaseïns wird die amphoter reagierende Milch mit Kochsalz versetzt, wobei sich das Kaseïn abscheidet. Dieses wird ausgewaschen und nach *Kjeldahl* bestimmt.

Ist alles Kaseïn ausgefällt und erwärmt man die Lösung auf 35°, so erhält man das Laktoglobulin.

Wird das von Kaseïn und Laktoglobulin befreite Filtrat auf 75—76° erhitzt, so scheidet sich das Albumin ab.

6. Bestimmung des Milchzuckers.

Bei der Milchzuckerbestimmung verfährt man zunächst in gleicher Weise wie bei der Eiweißbestimmung nach *Ritthausen*; man füllt die

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. 17. S. 241.

Flüssigkeit mit dem Eiweißniederschlage auf 500 *cm*³ auf, filtriert durch ein trockenes Faltenfilter, setzt 100 *cm*³ des Filtrates zu 50 *cm*³ kochender *Fehling*scher Lösung, erhält die Flüssigkeit 6 Minuten im Sieden und verfährt weiter nach S. 131.

Für eine genaue Bestimmung ist es besser, auch den Kalk zu entfernen, da sonst zu wenig Zucker gefunden wird, und zwar geschieht dies am einfachsten durch Zusatz von etwas Fluornatrium.

Die polarimetrische Bestimmung liefert ebenfalls brauchbare Resultate, jedoch darf das Eiweiß nicht mit Bleiessig gefällt werden. Nach *Scheibe* (Zeitschr. f. anal. Chem., S. 401 [1901]) fügt man zu 75 *cm*³ Milch 7·5 *cm*³ Schwefelsäure (20 Gew.-%) und 7·5 *cm*³ *Brückes* Reagens, füllt auf 100 auf und filtriert. Das Filtrat wird bei 17·5° im 400 *mm*-Rohr polarisiert. Um den Niederschlag zu berücksichtigen, ist das Ergebnis für Vollmilch mit 0·94, für Magermilch mit 0·97 zu vervielfachen.

Im Halbschattenapparat von *Schmidt* und *Hänsch* mit Kreisteilung und Natriumlicht ist 1° im 400 *mm*-Rohr = 0·4759 *g* Milchzucker in 100 *cm*³ Wasser. Siehe auch S. 178: Bestimmung der Refraktion.

7. Bestimmung des Säuregrades.

Diese wird nach *Soxhlet-Henkel* durch Titration mit $^1/_4$-Normalnatronlauge in 50 *cm*³ Milch vorgenommen (Indikator: Phenolphtaleïn). Der Säuregehalt gibt die Anzahl Kubikzentimeter $^1/_4$-Normalnatronlauge an, welche zur Neutralisierung von 100 *cm*³ Milch erforderlich waren (Schwankungen 5·5—9·0, im Mittel 6·8—7·5 Säuregrade).

8. Der Nachweis von Salpetersäure.

Nachweis mit Diphenylamin: Man bringt in ein Porzellanschälchen 2 *cm*³ Diphenylaminlösung in Schwefelsäure und überschichtet tropfenweise mit dem zu prüfenden Milchserum. Dann läßt man 2—3 Minuten ruhig stehen, schwenkt die Schale leise und beobachtet, ob sich blaue Streifen bilden, oder ob die ganze Flüssigkeitsschicht blau gefärbt wird.

Ober man bringt 5—10 *cm*³ Milchserum in eine Porzellanschale, unterschichtet mit konzentrierter Schwefelsäure und fügt eine Messerspitze Diphenylamin zu. Nach einiger Zeit schwenkt man die Schale vorsichtig und an der Berührungsstelle zeigen sich blaue Streifen, oder es entsteht eine blaue Zone.

Auch mit Formaldehydschwefelsäure kann die Salpetersäure nachgewiesen werden *(Fritzmann)*.[1])

9. Schmutzgehalt der Milch.

Die bisherigen Methoden der quantitativen Bestimmung des Schmutzgehaltes ergeben kein richtiges Bild von der wirklichen Verschmutzung der Milch. Um sich aber über den Grad ein ungefähres Urteil zu bilden, genügt es, eine Menge von $^1/_2$ *l* $^1/_2$ Stunde lang stehen zu

[1]) Zeitschr. f. öffentl. Chemie. S. 610 (1897).

lassen und festzustellen, ob sich ein Bodensatz gebildet hat. Man kann auch die gleiche Menge Milch durch eine Wattescheibe filtrieren.

Zur quantitativen Bestimmung des Schmutzgehaltes schüttelt man nach *Renk*[1]) die Milch tüchtig durch und gießt nach Zusatz von etwas Formalin 1 *l* in einen hohen Standzylinder. Nach dem Absetzen des Schmutzes hebert man die Milch vorsichtig bis auf 30—40 cm^3 ab, füllt mit destilliertem Wasser wieder auf 1 *l* auf und wiederholt dies, bis das Wasser hell und klar bleibt. Dann filtriert man durch ein gewogenes Filter, extrahiert den Rückstand mit Alkohol, dann mit Äther, trocknet und wiegt.

10. Prüfung auf Erhitzung.

Den Nachweis gekochter Milch führt man dadurch, daß man die Milch freiwillig gerinnen läßt und das klar filtrierte Serum zum Kochen erhitzt. Gekochte oder bei hohen Temperaturen sterilisierte Milch bleibt hierbei klar, ungekochte gibt eine starke, ein Gemisch von ungekochter mit gekochter Milch eine weniger starke Ausscheidung von Albumin.

M. Rubner[2]) trägt für den Zweck so lange Kochsalz unter Schütteln in die Milch ein, bis sich ungelöstes Kochsalz am Boden des Gefäßes ansammelt, erwärmt auf 30—40° und prüft das Filtrat wie vorhin.

Schneller kann mit Guajaktinktur und wenig Wasserstoffsuperoxyd geprüft werden, wodurch ungekochte Milch blau gefärbt wird.

Oder man setzt zu 10 cm^3 Milch 1 Tropfen 0·2%ige Wasserstoffsuperoxydlösung und einige Körnchen p-Phenylendiamin, wobei ungekochte Milch tiefblau gefärbt wird (Peroxydasewirkung). Saure Milch ist vorher mit Kalkwasser zu neutralisieren. Bei Gegenwart von Formalin ist diese Reaktion nicht verwendbar (*R. Eichholz*, Molkereizeitung, Berlin 1900, 10, 271).

Für die Beurteilung[3]) ist aber noch folgendes zu berücksichtigen: Die Phenylendiaminreaktion besitzt den Nachteil, daß ältere abgekochte Milch, wahrscheinlich durch Bakterienwachstum, eine positive Reaktion zeigt; in diesem Falle muß daher noch mit Guajaktinktur geprüft werden, da abgekochte Milch auch bei längerer Aufbewahrung mit Guajaktinktur niemals eine Blaufärbung zeigt. Wohl aber verhindert ein größerer Gehalt von Wasserstoffsuperoxyd die Guajakreaktion, namentlich dann, wenn das Wasserstoffsuperoxyd längere Zeit auf die Milch eingewirkt hat. Kleine Mengen Wasserstoffsuperoxyd beschleunigen bekanntlich die Guajakreaktion, größere dagegen unterdrücken sie (1·5 bis 3 cm^3 3%iges H_2O_2 in 100 cm^3 Milch). Die Konservierungsmittel doppeltkohlensaures Natron, Borax, Borsäure und Salizylsäure haben auf die Guajakreaktion keinen Einfluß. Formalin kann die Guajakreaktion roher Milch erst bei Zusatz erheblicher Mengen abschwächen (20 cm^3 Formalin

[1]) Münchener med. Wochenschr. Nr. 6 u. 7 (1891).

[2]) Hygienische Rundschau. S. 1021 (1895).

[3]) *Kühn*, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. H. 4. S. 115 (1912).

auf ein Liter Milch), namentlich dann, wenn das Formalin längere Zeit auf die Milch eingewirkt hat.

Kaliumbichromat dagegen macht die Guajakreaktion unbrauchbar, da sie auch bei abgekochter Milch positiv ausfällt.

Ferner kann auch durch Verunreinigungen (Blut) eine positive Reaktion vorgetäuscht werden.

11. Nachweis von Konservierungsmitteln.

A. Den Zusatz von kohlensaurem und doppeltkohlensaurem Alkali erkennt man unter Umständen an der verstärkten alkalischen Reaktion der Milch oder sicherer an dem vermehrten Kohlensäuregehalt der Asche.

Da nur wenig Soda benutzt wird (höchstens 1 *g* pro Liter), so ist aus dem Aschengehalt kein sicherer Schluß möglich. Dagegen enthält reine Milch höchstens 2% Kohlensäure und durch Bestimmung dieser Säure ist der Nachweis zu erbringen.

Als Vorproben benutzt man folgende Verfahren: 100 cm^3 Milch geben mit 5—10 cm^3 Alizarinlösung (2 : 1000 Alkohol von 90%) bei Gegenwart von Soda deutliche Rotfärbung *(P. Süß)*. Oder man fügt zu 10 cm^3 Milch 10 cm^3 Alkohol und einige Tropfen Rosolsäure (1 : 100). Die Milch wird rosa bis rötlich, wenn Soda oder Natriumbikarbonat vorhanden ist *(E. Schmidt)*. Ein Zusatz von 0·1% läßt sich noch gut erkennen, wenn man die gleiche Reaktion mit normaler Milch daneben hält.

B. Salizylsäure nach der von *Ch. Girard*[1]) angegebenen Methode. 100 cm^3 der zu prüfenden Milch und 100 cm^3 Wasser von 60° werden mit 8 Tropfen Essigsäure und 8 Tropfen salpetersaurem Quecksilberoxyd gefällt, geschüttelt und filtriert. Das Filtrat wird mit 50 cm^3 Äther ausgeschüttelt; der Äther wird verdunstet und der Rückstand mit Eisenchlorid auf Salizylsäure geprüft.

C. Benzoesäure nach *E. Meissl.*[2]) 250—500 cm^3 Milch werden mit einigen Tropfen Kalk- oder Barytwasser alkalisch gemacht, auf ein Viertel eingedunstet und unter Zusatz von Gipspulver zur Trockene verdampft; die trockene, feingepulverte Masse wird mit verdünnter Schwefelsäure befeuchtet und drei- bis viermal mit 50%igem Alkohol kalt ausgeschüttelt. Die vereinigten sauren alkoholischen Auszüge werden mit Barytwasser neutralisiert und auf ein kleines Volumen eingeengt. Der Rückstand wird abermals mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und mit kleinen Mengen Äther ausgeschüttelt. Der Äther hinterläßt beim freiwilligen Verdunsten fast reine Benzoesäure, die nach S. 164 erkannt wird.

D. Borsäure. 100 cm^3 mit Kalkmilch alkalisch gemachte Milch werden eingedampft und verascht. Die Asche wird nach S. 159 auf Borsäure geprüft.

E. Formaldehyd. 10 cm^3 Milch werden mit 7 cm^3 Salzsäure (S = 1·124), welche auf 100 cm^3 0·2 cm^3 einer 10%igen Eisenchlorid-

[1]) Zeitschr. f. anal. Chemie. Bd. 22. S. 277 (1883).

[2]) Zeitschr. f. anal. Chemie. Bd. 21. S. 531 (1882).

lösung enthält, in einem kleinen Kölbchen gemischt und 1/2 Minute lang gekocht. Bei Gegenwart von Formaldehyd entsteht violette Färbung.

Man kann auch die Reaktion nach *M. Riegel*[1] mit salpetersäurehaltiger Schwefelsäure ausführen.

F. Flußsäure. Die Prüfung geschieht mit 100—200 cm^3 Milch, wie bei Fleisch S. 163 angegeben ist.

G. Wasserstoffsuperoxyd. Nach *Rothenfusser*[2]) gibt man zu etwa 10 cm^3 Milch oder Serum 20 Tropfen 2%ige alkoholische Benzidinlösung und einige Tropfen verdünnter Essigsäure, es entsteht Blaufärbung, wenn Wasserstoffsuperoxyd zugegen ist.

12. Nachweis von Rohrzucker und Zuckerkalk.

Der Nachweis erfolgt nach *E. Baier* und *P. Neumann.*[3]) 25 cm^3 Milch oder Rahm werden in einem kleinen Kölbchen mit 10 cm^3 einer 5%igen Uranazetatlösung vermischt und nach etwa 5 Minuten durch ein Faltenfilter filtriert. Von dem klaren Filtrat gibt man 10 cm^3 in ein Reagenzrohr, gibt 2 cm^3 einer kaltgesättigten Ammoniummolybdatlösung und 8 cm^3 einer Salzsäure hinzu, welche man erhält, wenn man 1 Teil 25%ige Säure mit 7 Teilen Wasser mischt. Man schüttelt um und setzt das Reagenzglas 5 Minuten in ein auf 80° C erwärmtes Wasserbad. Nach dieser Zeit ist die Lösung bei Gegenwart von Saccharose mehr oder weniger blau, je nach der Menge der vorhandenen Saccharose. Nach weiteren 10 Minuten ist die Farbe tiefblau, während sie bei normaler Milch mehr oder weniger grünlich, ohne den charakteristischen blauen Farbenton ist.

Der Kalknachweis ist wegen der Schwankungen des Kalkgehaltes der Milch unsicher.

In Rahm oder Milch kann die Saccharose auch nach *Rothenfusser*[4]) nachgewiesen werden. Sein Reagens besteht aus einer Mischung von 20 cm^3 5%iger alkoholischer Diphenylaminlösung, 60 cm^3 Eisessig und 120 cm^3 verdünnter Salzsäure 1 + 1. Kurz vor dem Gebrauch mischt man 2 Teile Bleiessig mit 1 Teil Ammoniak (10%) und versetzt mit dieser Mischung ein gleiches Volumen Milch oder Rahm, schüttelt tüchtig durch und filtriert. Zu einem Teil des Filtrates setzt man zwei Teile des vorstehenden Reagens und stellt die Mischung 2—3 Minuten in das kochende Wasserbad. Bei Anwesenheit von Saccharose entsteht blaue Färbung.

Zum quantitativen Nachweis von Rohrzucker in eingedickter Milch verfährt man, wie unter Zucker später angegeben wird.

13. Frische und hygienische Beschaffenheit der Milch.

A. Alkoholprobe. 10 cm^3 Milch werden mit 10 cm^3 Alkohol von 68% gemischt, frische Milch gerinnt nicht.

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. 6. S. 603 (1903).
[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. 16. S. 589 (1908).
[3]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. 16. S. 51 (1908).
[4]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. 18. S. 135 (1909).

B. Die Gärprobe. Die Milch wird für sich und mit Lab versetzt, 12 Stunden bei 40° bebrütet und an der Hand der *Burstert*schen Tafel bewertet. Während dieser Zeit wird auf Gasentwicklung, Gerinnen, Geruch usw. geachtet.

C. Die Reduktaseprobe. Sie beruht darauf, daß keimhaltige Milch imstande ist, Methylenblaulösung zu entfärben. Nach *Chr. Bartel*[1]) werden 10 cm^3 Milch mit 0·5 cm^3 Methylenblaulösung (5 cm^3 gesättigte alkoholische Methylenblaulösung werden mit 195 cm^3 Wasser verdünnt) versetzt, mit flüssigem Paraffin überschichtet und in ein Wasserbad von 40 bis 45° gestellt; es wird die Zeit bis zur Entfärbung notiert. Je schneller die Entfärbung vor sich geht, desto mehr Bakterien enthält die Milch. Entfärbt sie sich innerhalb 3 Stunden nicht, so ist sie als gute Handelsmilch anzusehen.

14. Nachweis künstlicher Farbstoffe.

Für diesen Nachweis hat das Hygienische Institut in Hamburg folgendes Verfahren ausgearbeitet:

100—200 cm^3 Milch oder Rahm werden mit Essigsäure schwach angesäuert und auf 80° erwärmt. Das Koagulum, das außer den Eiweißstoffen auch das Fett und den Farbstoff enthält, wird mittelst Koliertuch vom Serum getrennt, noch zweimal zur Entfernung von Milchzucker mit Wasser behandelt, abgepreßt und noch feucht wiederholt mit Alkohol ausgekocht, bis dieser nicht mehr gefärbt ist. Die vereinigten Alkoholauszüge werden bis auf 10—20 cm^3 eingedampft, der Rest, erforderlichenfalls nach Zusatz der gleichen Menge absoluten Alkohols, im Eisschrank gekühlt. Nach 12stündigem Stehen gießt man die fast fettfreie, bei Anwesenheit von fremden Farbstoffen ziemlich stark gefärbte, alkoholische Lösung in einen kleinen Zylinder und hängt einen Streifen von Filtrierpapier hinein. Die Flüssigkeit steigt langsam durch Kapillaritätswirkung auf und verdunstet. Während bei reiner Milch, je nach der natürlichen Farbe, eine schwach gelbliche bis bräunliche bandförmige Verfärbung am oberen Teile des Papiers entsteht, zeigen die meist gebrauchten „Käsefarben" charakteristische breite Färbungen (Orleans z. B. rosa bis rötlich orange) unterhalb des auch bei reiner Milch entstehenden Bandes.

Die Papierstreifen befreit man vom anhaftenden Fett durch Waschen mit Petroläther, der die Farbstoffe auf der Faser nicht angreift.

Nach diesem Verfahren lassen sich viele der in milchwirtschaftlichen Betrieben gebrauchten Farbstoffe auffinden, manche aber auch nicht.

15. Die refraktometrische Untersuchung.

In neuerer Zeit ist auch das Refraktometer häufiger zur Untersuchung der Milch herangezogen worden.

R. Braun[2]) hat ein Verfahren zur Bestimmung des Milchzuckers im Serum angegeben. Jedoch gibt dies nur hinreichend genaue Resultate für Kuhmilch, nicht für andere Milch.

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. **15**. S. 385 (1908).

[2]) Milchzeitung. Bd. **30**. S. 578, 596, 613 (1901).

Auch zur Untersuchung auf Wässerung von Milch ist dies Verfahren von *C. Mai* und *S. Rothenfusser*[1]) im großen Umfange angewendet worden und hat gute Ergebnisse geliefert.

16. Um zu erkennen, von welcher Tierart eine Milch stammt, bedient man sich der biologischen Prüfung nach *Uhlenhuth*.[2])

Käse.

Käse ist die aus Kaseïn, Parakaseïn, Albumin, Fett, Milchzucker, Salzen und Wasser bestehende Masse, welche aus Milch gewonnen wird und einen Reifeprozeß durchgemacht hat.

Man unterscheidet Labkäse und Sauermilchkäse. Die Käsemasse kann auch nur aus dem Albumin der Milch bestehen, welches durch Kochen der Molke unter Zusatz von etwas saurer Molke abgeschieden wird.

Man nennt die Käse:

a) Rahmkäse, wenn Rahm oder Rahm mit Vollmilch verwendet wird;

b) vollfette, ganz fette oder Vollmilchkäse, wenn die Milch unentrahmt verwendet wurde;

c) fette und halbfette, wenn die Milch schwach abgerahmt wurde oder aus gleichen Teilen Vollmilch und Magermilch besteht;

d) magere (Magerkäse), wenn sie aus entrahmter Milch hergestellt worden sind.

Bei der Käsereife werden folgende Bestandteile gebildet:

Kaseïn, Kaseoglutin, Albumosen, Peptone Amidosäuren (Leuzin, Tyrosin, Phenylamidopropionsäure), Ammoniak, Milchsäure, Buttersäure und andere flüchtige Säuren.

J. König gibt für die verschiedenen Käse folgende mittlere Zusammensetzung an.

	Wasser	Stickstoffsubstanz	Fett	Mineralstoffe	In der Trockensubstanz Stickstoffsubstanz	In der Trockensubstanz Fett
	in Prozenten					
Rahmkäse	36·31	18·84	40·71	3·10	29·60	63·96
Fettkäse	38·—	25·35	30·25	4·97	40·89	48·79
Halbfettkäse	39·79	29·67	23·92	4·73	49·23	39·68
Magerkäse	46·—	34·06	11·65	4·87	63·08	21·58

Auf 1 Teil Fett kommen nach *Herz*[3]) folgende Mengen fettfreier Trockenmaße:

Bei überfetteten oder Rahmkäsen	weniger als	0·67 Teile
„ vollfetten Käsen	„ „	0·67—1·25 „
„ fetten Käsen	„ „	1·25—2·00 „
„ halbfetten Käsen	„ „	2·00—3·00 „
„ Magerkäsen	mehr als	3·00 „

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. **16**. S. 1 u. 2 (1908).

[2]) *Uhlenhuth* und *Weidanz*. Verlag von Gustav Fischer, Jena 1909.

[3]) Deutsche landw. Presse. S. 869 (1896).

Zur Untersuchung von Käse bestehen zum Teil besondere amtliche Untersuchungsverfahren, welche im Folgenden nebst anderen Verfahren aufgeführt sind.

Der Käse darf nicht nur der Rindenschicht oder dem inneren Teil entstammen, sondern muß einer Durchschnittsprobe entsprechen. Bei großen Käsen entnimmt man mit Hilfe des Käsestechers senkrecht zur Oberfläche ein zylindrisches Stück, bei kugelförmigen Käsen einen Kugelausschnitt. Kleine Käse nimmt man ganz in Arbeit. Die Menge soll mindestens 300 *g* betragen.

Harte Käse zerkleinert man vor der Untersuchung auf einem Reibeisen; weiche Käse werden in einer Reibschale zu einer gleichmäßigen Masse verarbeitet.

Die Auswahl der auszuführenden Bestimmungen richtet sich nach der Fragestellung. Handelt es sich um die Entscheidung der Frage, ob Milchfettkäse oder Margarinekäse vorliegt, so genügt die Untersuchung des Käsefetts.

1. Bestimmung des Wassers.

Die Wasserbestimmung kann mit der Bestimmung des Fettes verbunden werden. Man verfährt dabei folgendermaßen:

2·5 bis 5 *g* in kleine Würfel geschnittene Hartkäse werden in einem *Erlenmeyer*schen Kölbchen genau abgewogen und auf 40° erwärmt, das Kölbchen wird darauf unter die Glocke einer Luftpumpe gebracht, um einen Teil des Wassers zu entfernen. Dies Erwärmen und Evakuieren wird so lange wiederholt, bis keine merkliche Gewichtsabnahme mehr eintritt. Der entwässerte Rückstand wird zu wiederholten Malen mit kaltem Äther digeriert, die ätherische Lösung des Fettes wird jedesmal durch ein gewogenes, zuvor mit Äther ausgezogenes Filter gegossen und der Rückstand in einem Schälchen zerdrückt. Nach nochmaligem Auswaschen mit Äther wird der Rückstand auf das Filter gebracht, dort wiederholt mit Äther nachgewaschen und zuletzt mit dem Filter in einen Extraktionsapparat gebracht, um ihn dort noch längere Zeit mit Äther auszuziehen. Dabei empfiehlt es sich, die Masse einige Male aus dem Extraktionsapparate herauszunehmen und wieder zu zerkleinern.

Den Rückstand trocknet man bei 100 bis 105° in einem Trockenschranke, bis keine Gewichtsabnahme mehr eintritt.

Die ätherischen Lösungen sammelt man in einem gewogenen Kölbchen, destilliert den Äther ab, trocknet das zurückbleibende Fett im Dampftrockenschrank und wägt es.

Aus der Differenz des Gewichts der ursprünglich verwendeten Käsemasse und der entfetteten Trockensubstanz ergibt sich die Menge von Wasser + Fett; zieht man die letztere hiervon ab, so enthält man die Menge des Wassers.

Hierbei ist zu berücksichtigen, daß mit dem Wasser einige andere flüchtige Stoffe (Ammoniak und andere Zersetzungsprodukte) fortgehen, und daß der Äther außer dem Fette auch noch andere Stoffe, wie z. B.

Milchsäure, aufnimmt. Wenn diese Mengen im allgemeinen auch nicht besonders ins Gewicht fallen, so ist es doch zweckmäßig, bei sauren Käsen, besonders bei Sauermilchkäsen, die Käseprobe für die Fettbestimmung mit Sodalösung bis zur neutralen oder ganz schwach alkalischen Reaktion zu versetzen, den Käse zu trocknen und dann erst die Wasser- und Fettbestimmung in der beschriebenen Weise vorzunehmen.

Das Wasser kann auch in der Weise bestimmt werden, daß 3 bis 5 *g* Käsemasse in einer Platinschale mit geglühtem Sande zerrieben und im Dampftrockenschranke bis zum gleichbleibenden Gewichte getrocknet werden.

Neuerdings ist folgendes einfachere Verfahren von *Weigmann*[1] vorgeschlagen worden:

3—5 *g* der Käsemasse werden in einer Platinschale mit geglühtem Sand oder Bimssteinpulver so gut wie möglich vermischt, zuerst einige Tage im evakuierten Exsikkator und darauf im Dampftrockenschrank acht Stunden lang getrocknet.

Die genauesten Ergebnisse erhält man mit dem Verfahren von *C. Mai* und *E. Rheinberger.*[2]) Nach ihrer Vorschrift bringt man 8—12 *g* zerkleinerten Käse in einen *Erlenmeyer*-Kolben, fügt 200 *cm*³ Petroleum hinzu, 3—5 *g* Bimssteinstückchen, legt einen Kühler vor und destilliert etwa 75 *cm*³ ab, bis sich die wässerige Schicht nicht weiter vermehrt. Das Destillat wird in einer graduierten Röhre mit aufgesetztem Rückflußkühler aufgefangen. Der untere Teil der Röhre ist für die genaue Ablesung der wässerigen Schicht verjüngt, sodaß die zweite Dezimale noch geschätzt werden kann. Man stellt die Röhre zum Temperieren in Wasser von 15° und liest die Höhe der Wasserschicht ab.

2. Bestimmung des Fettes.

Die Bestimmung des Fettes kann nach Nr. 1 erfolgen, oder man bringt 3 bis 5 *g* Käsemasse mit reinem Seesand in einen Mörser und erwärmt einige Stunden im Dampftrockenschranke. Darauf zerreibt man die Masse, füllt die Mischung in eine entfettete Papierhülse, spült die Schale mit entwässertem Äther nach und zieht das Fett im Extraktionsapparat 4 Stunden mit entwässertem Äther aus. Die Käsesandmischung wird darauf nochmals zerrieben und wiederum 2 Stunden extrahiert. Schließlich wird der Äther abdestilliert, der Rückstand 1 Stunde im Dampftrockenschranke getrocknet und gewogen.

Die Extraktionsmethoden geben namentlich bei mageren Käsen zu niedrige Resultate. Bei Anwendung von Lauge als Lösungsmittel für den Käse erhält man nur das unzersetzte Käsefett. Will man auch die bei der Reife durch Spaltung des Käsefettes entstandenen Fettsäuren mitbestimmen, so muß Säure als Lösungsmittel angewendet werden.

---

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. H. 6. S. 94 (1910).
[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. H. 19. S. 475 (1912).

Rasche und annähernde Resultate gibt, ausgenommen bei ganz mageren Käsen, die Methode von *N. Gerber*, genaue dagegen die Methode von *Schmidt-Boudzynski* in der Abänderung von *E. Ratzlaff*.

Verfahren von *Boudzynski-Ratzlaff*: 3—5 *g* der Probe werden in einen runden mit Kork verschließbaren Stehkolben von etwa 130 *cm*³ Inhalt eingewogen, mit 10 *cm*³ Salzsäure vom spez. Gewicht 1·125 versetzt und auf kleiner Flamme unter Umschwenken vorsichtig erhitzt. Bei beginnendem Sieden löst sich der Käse vollständig auf, und die Flüssigkeit färbt sich braun. Die etwas abgekühlte, klare Lösung wird noch warm, damit das Fett noch flüssig ist, in das *Röse-Gottlieb*sche Rohr gebracht, mit wenig heißem Wasser nachgespült und die Flüssigkeit im Rohr durch Einstellen in Wasser abgekühlt. Darauf wird der Fettrest im Kolben mit 5 *cm*³ Alkohol (95⁰/₀ig), 25 *cm*³ Äther und 25 *cm*³ Petroläther in das Rohr gespült und nach jedem Zusatz kräftig umgeschüttelt. Es wird weiter wie bei der Milchfettbestimmung nach *Gottlieb* verfahren, mit dem Unterschied, daß in gleicher Weise noch zweimal ausgeschüttelt wird. Das Abhebern kann bereits nach wenigen Minuten erfolgen, falls die Ätherfettlösung klar geworden ist.

3. Bestimmung des Gesamtstickstoffes.

1—2 *g* Käsemasse werden in einem Rundkölbchen aus Kaliglas mit 25 *cm*³ konzentrierter Schwefelsäure und 0·5 *g* Kupfersulfat gekocht, bis die Flüssigkeit farblos geworden ist; man verfährt dann weiter nach den Allgemeinen Methoden S. 105.

4. Bestimmung der löslichen Stickstoffverbindungen.

15—20 *g* Käsemasse werden bei etwa 40⁰ C getrocknet und die getrocknete Masse in der unter Nr. 1 und 2 angegebenen Weise mit Äther extrahiert. 10 *g* der fettfreien Trockensubstanz verreibt man mit Wasser zu einem dünnflüssigen Brei, spült diesen in einen 500 *cm*³-Kolben, füllt mit Wasser bis zu etwa 450 *cm*³ auf und läßt das Ganze unter zeitweiligem Umschütteln 15 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen. Dann füllt man die Flüssigkeit bis zur Marke auf, schüttelt um und filtriert. 100 *cm*³ Filtrat werden in einem Rundkölbchen aus Kaliglas eingedampft und der Rückstand mit 25 *cm*³ konzentrierter Schwefelsäure und 0·5 *g* Kupfersulfat gekocht, bis die Flüssigkeit farblos wird. Zur Bestimmung des Stickstoffes verfährt man dann weiter wie unter 4 angegeben ist.

5. Bestimmung der freien Säure.

10 *g* Käsemasse werden mehrmals mit Wasser ausgekocht, die Auszüge vereinigt, filtriert und auf 200 *cm*³ aufgefüllt. In 100 *cm*³ der Flüssigkeit titriert man nach Zusatz einiger Tropfen einer alkoholischen Phenolphtaleïnlösung die freie Säure mit ¹/₁₀-Normal-Alkalilauge. Die Säure des Käses ist auf Milchsäure zu berechnen: 1 *cm*³ ¹/₁₀-Normalalkalilauge entspricht 0·009 *g* Milchsäure.

6. Bestimmung der Mineralbestandteile.

5 *g* Käsemasse werden in einer Platinschale mit kleiner Flamme verkohlt. Weiter wird wie bei der Bestimmung der Mineralbestandteile in der Butter verfahren, ebenso bei der Bestimmung des Kochsalzes in der Käseasche.

Da bei der Veraschung[1]) des gesalzenen Käses Chlorwasserstoff entweicht, so versetzt man die eingewogene Menge mit ungefähr der gleichen Menge wasserfreiem Natriumkarbonat und erhitzt vorsichtig mit kleiner Flamme bis zur vollständigen Verkohlung. Die Kohle wird mit Wasser ausgezogen, und die Auszüge werden mit dem weißgebrannten Rückstand eingedampft; dann wird getrocknet, gewogen und die zugesetzte Menge Natriumkarbonat in Abzug gebracht.

Die filtrierte Lösung der Gesamtasche dient zur Bestimmung des Chlors oder Kochsalzes (S. 152).

7. Untersuchung des Käsefettes auf Abstammung.

A. Abscheidung des Fettes aus dem Käse.

α) 200—300 *g* zerkleinerte Käsemasse werden im Trockenschrank auf 80—90° C erwärmt. Nach einiger Zeit schmilzt das Käsefett ab; es wird abgegossen und durch ein trockenes Filter filtriert.

β) 200 *g* Käsemasse werden mit Wasser zu einem Brei angerieben. Der Brei wird mit so viel Wasser in eine Flasche von 500—600 cm^3 Inhalt mit möglichst weitem Halse gespült, daß insgesamt etwa 400 cm^3 verbraucht werden. Schüttelt oder zentrifugiert man die geschlossene Flasche, so scheidet sich das Käsefett an der Oberfläche ab. Es wird abgehoben, mit Eis gekühlt, ausgeknetet, geschmolzen und durch ein trockenes Filter filtriert.

γ) Je[2]) nach dem Fettgehalt werden 300—500 *g* mit Wasser zu einer Emulsion verrieben, diese bringt man mit einer größeren Menge Wasser in einen Präparatenzylinder, setzt Kalilauge zu und schüttelt kräftig durch. Nach kurzem Stehen sammelt sich das von Fettsäuren befreite Fett oben an; es wird abgenommen und mit kaltem Wasser bis zur neutralen Reaktion ausgewaschen.

B. Untersuchung des Käsefettes.

Das Käsefett wird nach denselben Grundsätzen wie Butterfett untersucht. Handelt es sich um Margarinekäse, so ist noch die folgende Prüfung auszuführen.

8. Schätzung des Sesamölgehaltes des Käsefettes.

1 cm^3 Käsefett wird mit 9 cm^3 Baumwollsamenöl, das mit Furfurol und Salzsäure keine Rotfärbung gibt, vermischt. Man prüft die Mischung nach dem S. 196 angegebenen Verfahren auf Sesamöl. Hat das Käsefett den vorgeschriebenen Gehalt an Sesamöl von der vorgeschriebenen Beschaffenheit, so muß die Sesamölreaktion noch deutlich eintreten.

---

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel. S. 95 (1910).
[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel. H. 6. S. 95 (1910).

9. Die Bestimmung der Stärke in stärkemehlhaltigem Käse erfolgt am zweckmäßigsten nach dem Verfahren von *Mayrhofer* (S. 148).

Speisefette und Öle.

Zur Ernährung dienen sowohl Fette des Tierreiches als auch des Pflanzenreiches.

Die tierischen Fette bestehen vorwiegend aus den Triglyzeriden der Stearin-, Palmitin- und Ölsäure, neben denen sich nur im Butterfett noch erhebliche Mengen von Glyzeriden niederer Fettsäuren finden; sie enthalten außerdem alle Cholesterine.

Die pflanzlichen Fette enthalten neben den Glyzeriden der Stearin-, Palmitin- und Ölsäure noch mehr oder weniger Glyzeride der Leinölsäure, einige auch Laurinsäure, Myristinsäure, Arachinsäure u. a., mitunter auch wesentliche Mengen niederer Fettsäuren; außerdem enthalten alle Phytosterine.

Für die Untersuchung von Fetten bestehen eine ganze Anzahl von amtlichen Verfahren, welche im folgenden und bei den einzelnen Fettarten mit aufgeführt sind.

Um Wiederholungen zu vermeiden, werden die für alle Fette gemeinsamen Untersuchungsverfahren in dem Kapitel „Allgemeine Verfahren" beschrieben werden.

Allgemeine Untersuchungsverfahren.

1. Bestimmung des spezifischen Gewichts.

Das spezifische Gewicht ist wegen des geringen Unterschiedes zwischen den spezifischen Gewichten der verschiedenen Fette nur von geringer Bedeutung.

Bei flüssigen Fetten geschieht die Bestimmung bei 15° mittelst des Pyknometers.

Bei festen Fetten bestimmt man meist das spezifische Gewicht bei 100°.

2. Bestimmung des Schmelz- und Erstarrungspunktes.

Zur Bestimmung des Schmelzpunktes wird das geschmolzene Butterfett in ein an beiden Enden offenes, dünnwandiges Glasröhrchen von $1/2$ bis 1 *mm* Weite von U-Form aufgesaugt, so daß die Fettschicht in beiden Schenkeln gleich hoch steht. Das Glasröhrchen wird 2 Stunden auf Eis gelegt, um das Fett völlig zum Erstarren zu bringen. Dann ist das Glasröhrchen mit einem geeigneten Thermometer durch einen dünnen Kautschukschlauch so zu verbinden, daß das Fett sich in gleicher Höhe mit der Quecksilberkugel des Thermometers befindet. Dieses wird in ein etwa 3 *cm* weites Probierröhrchen, welches Wasser oder Glyzerin enthält, eingetaucht und die Flüssigkeit erwärmt. Das Erwärmen muß, um jedes Überhitzen zu vermeiden, sehr allmählich geschehen. Sobald das Fettsäulchen vollkommen klar und durchsichtig geworden ist, ist der Schmelzpunkt erreicht.

Zur Ermittlung des Erstarrungspunktes füllt man das Fett 2—3 *cm* hoch in ein dünnes Probierröhrchen oder -Kölbchen und hängt mittelst eines Korkes ein Thermometer so weit hinein, daß die Kugel vom flüssigen Fette völlig bedeckt ist. Dann hängt man das Probierröhrchen oder Kölbchen in ein Becherglas mit warmem Wasser von 40—50° und läßt langsam erkalten. Die Quecksilbersäule sinkt allmählich, bleibt aber bei einer bestimmten Temperatur eine Zeitlang stehen, um dann erst weiter zu sinken. Das Fett erstarrt während des Konstantbleibens, und diese Temperatur ist der Erstarrungspunkt.

Mitunter beobachtet man während des vollständigen Erstarrens ein deutliches Steigen. Man betrachtet in diesem Falle die höchste Temperatur, welche das Quecksilber während des Erstarrens erreicht, als den Erstarrungspunkt.

3. Bestimmung des Brechungsvermögens.

Die wesentlichen Teile des Refraktometers (vgl. Fig. 57) sind zwei Glasprismen, die in den zwei Metallgehäusen A und B enthalten sind. Je eine Fläche der beiden Glasprismen liegt frei. Das Gehäuse B ist um die Achse C drehbar, so daß die beiden freien Glasflächen der Prismen aufeinandergelegt und voneinander entfernt werden können. Die beiden Metallgehäuse sind hohl; läßt man warmes Wasser hindurchfließen, so werden die Glasprismen erwärmt. An das Gehäuse A ist eine Metallhülse für ein Thermometer M angesetzt, dessen Quecksilbergefäß bis in das Gehäuse A reicht. K ist ein Fernrohr, in dem eine von 0—100 eingeteilte Skala angebracht ist; J ist ein Quecksilberspiegel, mit dessen Hilfe die Prismen und die Skala beleuchtet werden.

Zur Erzeugung des warmen Wassers kann die in Fig. 58 gezeichnete Heizvorrichtung dienen. Der einfache Heizkessel ist mit einem gewöhnlichen Thermometer T_1 und einem sogenannten Thermoregulator S_1 mit Gasbrenner B_1 versehen. Der Rohrstutzen A_1 steht durch einen Gummischlauch mit einem ½—1 *m* höher stehenden Gefäße C_1 mit kaltem Wasser (z. B. einer Glasflasche) in Verbindung; der Gummischlauch trägt einen Schraubenquetschhahn E_1. Vor Anheizung des Kessels läßt man ihn durch Öffnen des Quetschhahns E_1 voll Wasser fließen, schließt dann den Quetschhahn, verbindet das Schlauchstück G_1 mit der Gasleitung und entzündet die Flamme bei B_1. Durch Drehen an der Schraube P_1 reguliert man den Gaszufluß zu dem Brenner B_1 in der Weise, daß die Temperatur des Wassers in dem Kessel bei der Untersuchung fester Fette 40—45° C, bei denjenigen von Ölen 25—30° C beträgt. Sollten jedoch Fette zur Untersuchung gelangen, die schon bei 42° erstarren, so ist die Bestimmung des Brechungsvermögens bei einer Temperatur vorzunehmen, welche ausreicht, um das Fett geschmolzen zu erhalten; hierzu wird es einer Erhöhung der Temperatur über 60° hinaus nicht bedürfen. An Stelle der hier beschriebenen Heizvorrichtung können auch andere Einrichtungen verwendet werden, welche eine möglichst gleichbleibende Temperatur des Heizwassers gewährleisten. Falls eine Gasleitung nicht zur Verfügung steht, behilft man sich

Physikalische und chemische Kon-

	Bezeichnung der Öle oder Fette	Spezifisches Gewicht bei 15° C	Natürliches Fett		Fett
			Schmelzpunkt Grad C	Erstarrungspunkt Grad C	Schmelzpunkt Grad C
	I. Trocknende Öle.				
1	Leinöl	0·930—0·941	—	—16—20	17—24
2	Mohnöl	0·924—0·937	—	—17—19	20—21
3	Hanföl	0·925—0·931	—	—28	17—19
4	Walnußöl	0·925—0·926	—	—28	15—20
5	Sonnenblumenöl	0·924—0·936	—	—16—19	17—24
	II. Nichttrocknende Öle.				
6	Olivenöl	0·914—0·920		— 6	19—33
7	Mandelöl	0·917—0·920	—	—20	13—14
8	Aprikosenöl	0·915—0·920	—	—14—20	2— 5
9	Rüböl	0·911—0·918	—	— 2—10	16—22
10	Sesamöl	0·921—0·924	—	— 4— 6	21—32
11	Arachisöl	0·911—0·926	—	— 7—+3	27—36
12	Baumwollsamenöl	0·920—0·930	—	1—+4	34—43
13	Rizinusöl	0·960—0·964	—	—17—18	13
14	Buchenkernöl	0·920—0·923	—	—17—18	23—24
15	Haselnußöl	0·917—0·924	—	—10—20	17—25
16	Leindotteröl[2])	0·920—0·933	—	—17—19	18—20
	III. Trane.				
17	Dorschlebertrane	0·920—0·941	—	0	21—25
18	Robbentrane	0·916—0·930	—	—	—
19	Sardinenöl	0·928—0·934	—	—	27—37
	IV. Feste Pflanzenfette.				
20	Palmöl	0·921—0·941	27—43	21—39	47—50
21	Palmkernöl	0·952—0·955	23—28	10—24	21—29
22	Kokosöl	0·925—0·926	20—28	14—23	24—27
23	Kakaobutter	0·945—0·976	28—36	20—27	48—53
24	Muskatbutter[3])	0·945—0·995	38—51	41—44	42·5
25	Malabartalg	0·915	36·5	30·5	56·6
26	Japantalg	0·975—0·980	50—56	40·5—41·0	—
	V. Feste tierische Fette.				
27	Kuhbutter	0·926—0·946[4])	28—35	19—26	38—45
28	Ziegenbutter	0·931	27—38·5	24—31	—
29	Schafbutter	—	29—30	12	—
30	Oleomargarine	0·924—0·930	34·0	20—22	42—45
31	Rindstalg	0·942—0·953	42·5—49·0	27—38	41—47
32	Hammeltalg	0·937—0·961	43—55	31—41	41—57
33	Schweinefett	0·931—0·938	34—48	26—32	35—47
34	Pferdefett	0·917—0·933	34—39	20—48	36—44
35	Gänsefett	0·916—0·930	25—40	18—24	36—41
36	Knochenfett	0·914—0·916	21—22	15—17	30—45
37	Wollschweißfett	0·973	39—42·5	38—40	

[1]) Nach *Röttger*, Lehrbuch der Nahrungsmittelchemie. 1910. — [2]) Von Camelina ist das spezifische Gewicht des Kuhbutterfettes 0·865—0·868; des Rindstalgs 0·860 bis 0·860. — [5]) Bei 40° C. — [6]) Bei japanischem und chinesischem Schweinefett wurden

stanten der Fette und Öle.[1])

säuren				Hüblsche Jodzahl			
Erstarrungspunkt Grad C	Refraktion nach *Zeiß-Wollny* bei 25° C	*Hehner*sche Zahl %	*Köttstorfer*sche Zahl *mg* KOH für 1 *g* Fett	Fett	Fettsäuren	Reichert-Meißlsche Zahl flüchtige Fettsäuren für 5 g Fett cm³ 1/10 N KOH	
13·3—17·5	81·0—87·5	—	188—195	170—202	190—210	0·0—0·9	1
16·0—17·0	72·0—74·5	95·38	190—198	131—158	150	0·0—0·6	2
14·0—16·0	—	—	190—193	140—166	—	—	3
16·0	—	—	186—197	132—152	167	—	4
17·0—18·0	72·2	95·0	188—194	120—135	154		5
17—25	62·2—62·8	95·5—96·2	185—196	79—94	93—104	0·3—1·5	6
5—12	64·0—64·8	96·2	188—195	93—102	102	—	7
0	65·6—66·6	—	192—193	100—101	—	—	8
12—19	68·0	95·1	168—179	94—106	121—126	0·0—0·9	9
18—29	66·2—69·0	95·86	187—195	103—115	129—140	0·1—1·2	10
22—32	65·8—67·5	95·86	186—197	97—103	105—129	0·0—1·6	11
31—40	67·6—69·4	95·5—96·3	191—196	102—117	142—152	0·5—1·0	12
3·0	—	—	176—186	82—84·4	—	—	13
17·0	—	95·16	191—196	104—120	—	—	14
9·0	—	95·5	187—197	83—90	91—98	0·99	15
13—14	—	—	188	133—142	165	—	16
—	75·0	—	171—213	123—168	—	0·1—0·3	17
—	—	—	178—196	91—152·4	—	—	18
—	—	—	190—197	156—194	—	—	19
39—46	36·5[5])	95·6	196—203	50—52	94·6	0·3—1·0	20
20—26	36·5[5])	—	241—255	10—18	—	3·5—6·8	21
16—23	33·5—35·5[5])	—	246—268	8—10	32—54	6·0—8·5	22
45—51	46·0—47·5[5])	94·6	192—202	33—42	—	—	23
40·0	—	—	—	31·0	—	—	24
54·8	—	—	191·9	—	—	—	25
—	—	—	207—238	4—15	—	—	26
33—38	39·4—36·0[5])	87·5	219—232	26—38	—	20—34	27
—	36·5—43·8[5])	—	221—242	21—29		17—29	28
—	44·4[5])	—	227·8	35·1	—	26—33	29
40—43	48·6—49·2[5])	—	192—200	44—55	—	0·1—1·0	30
39—47	45·0—50·0[5])	96·0	193—200	35—48	89—92	0·1—1·0	31
39—52	47·5—48·7[5])	95·5	192—198	33—46	92·7	0·1—1·2	32
34—42	48·5—71·5[5])	96·16	195—200	46—77[6])	89—116[6])	0·3—1·1	33
30—38	51·0—60·0[5])	94·8—95·5	183—200	71—90	124—125	0·2—2·1	34
31—40	50·0—51·5[5])	92·4—95·7	184—198	59—81	—	0·2—2·0	35
36—43	—	—	181—195	46—63	—	—	36
—	—	—	—	20—21	—	7—10	37

sativa Crucif. — [3]) Aus dem Samen des Muskatbaumes Myristica offic. — [4]) Bei 100° 0·861; des Hammeltalgs 0·858—0·860; des Schweinefettes 0·861; des Margarin 0·85[illegible] bis Jodzahlen bis 101·7 beobachtet und solche der flüssigen Fettsauren bis zu 138·7

in der Weise, daß man das hochstehende Gefäß C_1 mit Wasser von etwa 45° oder 30° füllt, es durch einen Schlauch unmittelbar mit dem Schlauchstücke D des Refraktometers verbindet und das warme Wasser

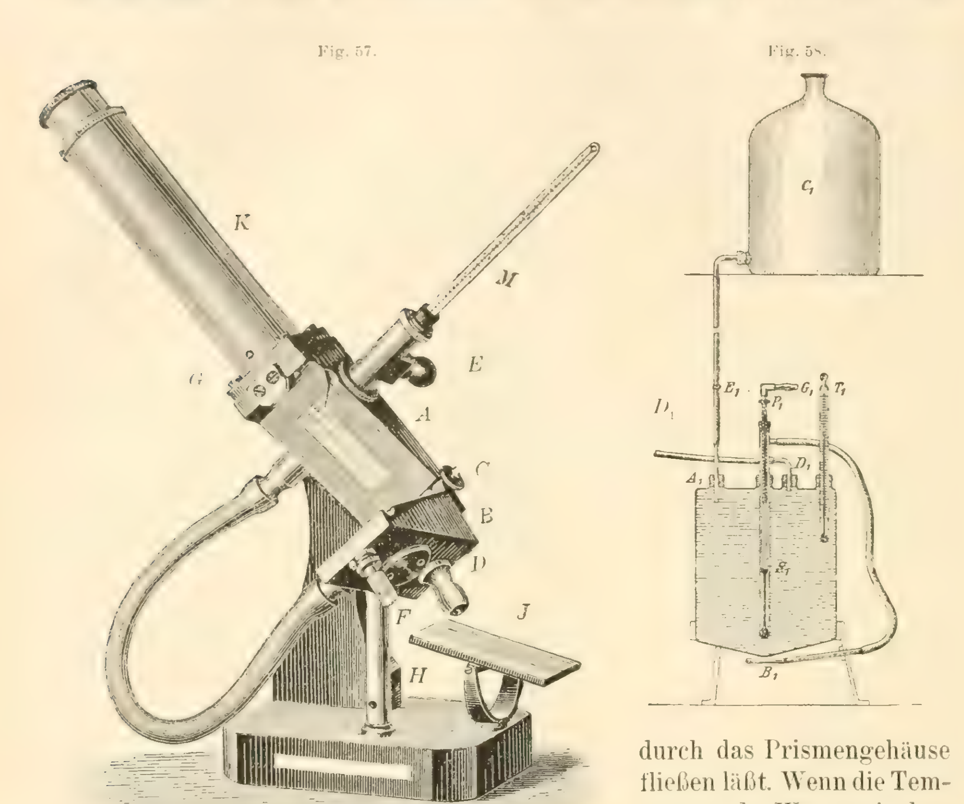


Fig. 57. Fig. 58.

durch das Prismengehäuse fließen läßt. Wenn die Temperatur des Wassers in dem hochstehenden Gefäße C_1 bis unter 40° oder 25° gesunken ist, muß es wieder auf die Temperatur von 45° oder 30° gebracht werden.

α) Aufstellung des Refraktometers und Verbindung mit der Heizvorrichtung.

Man hebt das Instrument aus dem zugehörigen Kasten heraus, wobei man nicht das Fernrohr K, sondern die Fußplatte anfaßt, und stellt es so auf, daß man bequem in das Fernrohr hineinschauen kann. Zur Beleuchtung dient das einfallende Tageslicht oder das Licht einer Lampe.

Man verbindet das an dem Prismengehäuse B des Refraktometers (Fig. 57) angebrachte Ansatzstück D mit dem Rohrstutzen D_1 des Heizkessels; gleichzeitig schiebt man über das an der Metallhülse des Thermometers angebrachte Schlauchstück E einen Gummischlauch, den man zu einem tiefer stehenden leeren Gefäß oder einem Wasserablaufbecken leitet.

Man öffnet hierauf den Schraubenquetschhahn E_1 und läßt aus dem Gefäße C_1 (Fig. 58) Wasser in den Heizkessel fließen. Dadurch wird warmes Wasser durch den Rohrstutzen D_1 (Fig. 58) und mittelst des Gummischlauches durch das Ansatzstück D (Fig. 57) in das Prismengehäuse B, von hier aus durch den in der Fig. 57 gezeichneten Schlauch nach dem Prismengehäuse A gedrängt und fließt durch die Metallhülse des Thermometers M, den Stutzen E und den daran angebrachten Schlauch ab. Die beiden Glasprismen und das Quecksilbergefäß des Thermometers werden durch das warme Wasser erwärmt.

Durch geeignete Stellung des Quetschhahns regelt man den Wasserzufluß zu dem Heizkessel so, daß das aus E austretende Wasser nur in schwachem Strahle ausfließt, und daß das Thermometer bei festen Fetten eine Temperatur von nicht unter 38° und nicht über 42°, bei Ölen nicht unter 23° und nicht über 27° anzeigt. Liegen Fette zur Untersuchung vor, welche schon bei 42° erstarren, so darf die Temperatur des Heizwassers nur allmählich gesteigert und nach Beendigung der Messungen nur allmählich wieder vermindert werden. Einer Erhöhung der Temperatur über 60° hinaus wird es nicht bedürfen.

β) Aufbringen des geschmolzenen Fettes auf die Prismenfläche und Ablesung der Refraktometerzahl.

Man öffnet das Prismengehäuse des Refraktometers, indem man den Stift F (Fig. 57) etwa eine halbe Umdrehung nach rechts dreht, bis Anschlag erfolgt; dann läßt sich die eine Hälfte des Gehäuses (B) zur Seite legen. Die Stütze H hält B in der in Fig. 57 dargestellten Lage fest. Man richtet das Instrument mit der linken Hand so weit auf, daß die freiliegende Fläche des Glasprismas B annähernd horizontal liegt, bringt mit Hilfe eines kleinen Glasstabes drei Tropfen des filtrierten Fettes auf die Prismenfläche, verteilt das geschmolzene Fett mit dem Glasstäbchen so, daß die ganze Glasfläche davon benetzt ist, und schließt dann das Prismengehäuse wieder. Man drückt zu dem Zwecke den Teil B an A an und führt den Stift F durch Drehung nach links wieder in seine anfängliche Lage zurück; dadurch wird der Teil B am Zurückfallen verhindert und zugleich ein dichtes Aufeinanderliegen der beiden Prismenflächen bewirkt. Das Instrument stellt man dann wieder auf seine Bodenplatte und gibt dem Spiegel eine solche Stellung, daß die Grenzlinie zwischen dem hellen und dunklen Teile des Gesichtsfeldes deutlich zu sehen ist, wobei nötigenfalls der ganze Apparat etwas verschoben oder gedreht werden muß. Ferner stellt man den oberen ausziehbaren Teil des Fernrohres so ein, daß man die Skala scharf sieht.

Nach dem Aufbringen des geschmolzenen Fettes auf die Prismenfläche wartet man etwa drei Minuten und liest dann in dem Fernrohr ab, an welchem Teilstriche der Skala die Grenzlinie zwischen dem hellen und dunklen Teile des Gesichtsfeldes liegt; liegt sie zwischen zwei Teilstrichen

so werden die Bruchteile durch Abschätzen ermittelt. Sofort hinterher liest man das Thermometer ab.

Die abgelesenen Refraktometerzahlen sind in der Weise auf die Normaltemperatur von 40° umzurechnen, daß für jeden Temperaturgrad, den das Thermometer über 40° zeigt, 0·55 Teilstriche zu der abgelesenen Refraktometerzahl zuzuzählen sind, während für jeden Temperaturgrad, den das Thermometer unter 40° zeigt, 0·55 Teilstriche von der abgelesenen Refraktometerzahl abzuziehen sind.

γ) Reinigung des Refraktometers.

Nach jedem Versuche müssen die Oberflächen der Prismen und deren Metallfassungen sorgfältig von Fett gereinigt werden. Dies geschieht durch Abreiben mit weicher Leinwand oder weichem Filtrierpapier, wenn nötig, unter Benutzung von etwas Äther.

δ) Prüfung der Refraktometerskala auf richtige Einstellung.

Vor dem erstmaligen Gebrauch und späterhin von Zeit zu Zeit ist das Refraktometer daraufhin zu prüfen, ob nicht eine Verschiebung der Skala stattgefunden hat. Hierzu bedient man sich der dem Apparat beigegebenen Normalflüssigkeit.[1]) Man schraubt das zu dem Refraktometer gehörige gewöhnliche Thermometer auf, läßt Wasser von Zimmertemperatur durch das Prismengehäuse fließen (man heizt also in diesem Falle die Heizvorrichtung nicht an), bestimmt in der vorher beschriebenen Weise die Refraktometerzahl der Normalflüssigkeit und liest gleichzeitig den Stand des Thermometers ab. Wenn die Skala richtig eingestellt ist, muß die Normalflüssigkeit bei verschiedenen Temperaturen folgende Refraktometerzahlen zeigen:

Bei einer Temperatur von	Skalenteile	Bei einer Temperatur von	Skalenteile
25° C	71·2	16° C	76·7
24° „	71·8	15° „	77·3
23° „	72·4	14° „	77·9
22° „	73·0	13° „	78·6
21° „	73·6	12° „	79·2
20° „	74·3	11° „	79·8
19° „	74·9	10° „	80·4
18° „	75·5	9° „	81·0
17° „	76·1	8° „	81·6

Weicht die Refraktometerzahl bei der Versuchstemperatur von der in der Tabelle angegebenen Zahl ab, so ist die Skala bei der seitlichen

[1]) Die Normalflüssigkeit ist von der Firma *Carl Zeiß* in Jena zu beziehen; sie ist vor Licht geschützt und in gut verschlossenen Gefäßen aufzubewahren und darf nicht älter als 6 Monate sein.

kleinen Öffnung *G* (Fig. 57) mit Hilfe des dem Instrument beigegebenen Uhrschlüssels wieder richtig einzustellen.

4. Bestimmung der Polarisation.

Mitunter wird auch die Drehung eines Öles bestimmt. Harzöle und auch andere Fette und Öle bestimmter Pflanzenfamilien (Euphorbiaceen) besitzen ein starkes Drehungsvermögen. Die Prüfung geschieht entweder mit dem Öl selbst, welches, wenn nötig, vorher mit Tierkohle entfärbt wird, oder bei festen Fetten in geeigneten Lösungsmitteln, z. B. Äther oder Petroleum.

5. Bestimmung der flüchtigen, in Wasser löslichen Fettsäuren (der *Reichert-Meissl*schen Zahl).

Genau 5 *g* Butterfett werden mit einer Pipette in einem Kölbchen von 300—350 *cm*³ Inhalt abgewogen und auf das kochende Wasserbad gestellt. Zu dem geschmolzenen Fette läßt man aus einer Pipette 10 *cm*³ einer alkoholischen Kalilauge (20 *g* Kaliumhydroxyd in 100 *cm*³ Alkohol von 70 Vol.-% gelöst) fließen. Während man den Kolbeninhalt durch Schütteln öfter zerteilt, läßt man den Alkohol zum größten Teile weggehen; es tritt bald Schaumbildung ein, die Verseifung geht zu Ende und die Seife wird zähflüssig; sodann bläst man solange in Zwischenräumen von etwa je ½ Minute mit einem Handgebläse unter gleichzeitiger schüttelnder Bewegung des Kolbens Luft ein, bis durch den Geruch kein Alkohol mehr wahrzunehmen ist. Man verfährt am besten in der Weise, daß man mit der Rechten den Ballon des Blasebalgs drückt, während die Linke den Kolben, in dessen Hals das mit einem gebogenen Glasrohre versehene Schlauchende des Ballons eingeführt ist, faßt und schüttelt. Auf diese Art ist in 15, längstens in 25 Minuten die Verseifung und die vollständige Entfernung des Alkohols bewerkstelligt. Man läßt sofort 100 *cm*³ Wasser zufließen und erwärmt noch mäßig einige Zeit, bis die Seife vollkommen klar gelöst ist. Sollte hierbei ausnahmsweise keine völlig klare Lösung zu erreichen sein, so wäre der Versuch wegen ungenügender Verseifung zu wiederholen.

Zu der etwa 50° warmen Lösung fügt man dann 40 *cm*³ verdünnte Schwefelsäure (1 Raumteil konzentrierte Schwefelsäure auf 10 Raumteile Wasser) und einige erbsengroße Bimssteinstückchen. Der Kolben wird darauf sofort mittelst eines schwanenhalsförmig gebogenen Glasrohres (von 20 *cm* Höhe und 6 *mm* lichter Weite), welches an beiden Enden stark abgeschrägt ist, mit einem Kühler (Länge des vom Wasser umspülten Teiles nicht unter 50 *cm*) verbunden, und es werden genau 110 *cm*³ Flüssigkeit abdestilliert (Destillationsdauer nicht über ½ Stunde). Das Destillat mischt man durch Schütteln, filtriert durch ein trockenes Filter und mißt 100 *cm*³ ab. Diese werden nach Zusatz von 3—4 Tropfen Phenolphtaleïnlösung mit $^1/_{10}$-Normalalkalilauge titriert. Der Verbrauch wird durch Hinzuzählen des 10. Teiles auf die Gesamtmenge des Destillates berechnet. Bei jeder Versuchsreihe führt man einen blinden Versuch aus, indem man 10 *cm*³

der alkoholischen Kalilauge mit so viel verdünnter Schwefelsäure versetzt, daß ungefähr eine gleiche Menge Kali wie bei der Verseifung von 5 *g* Fett ungebunden bleibt, und im übrigen wie bei dem Hauptversuche verfährt. Die bei dem blinden Versuche verbrauchten Kubikzentimeter $^1/_{10}$-Normalalkalilauge werden von den bei dem Hauptversuche erhaltenen abgezogen. Diese Zahl ist die *Reichert-Meissl*sche Zahl. Die alkoholische Kalilauge genügt den Anforderungen, wenn bei dem blinden Versuche nicht mehr als 0·4 cm^3 $^1/_{10}$-Normalalkalilauge zur Sättigung von 110 cm^3 Destillat verbraucht werden.

Die Verseifung des Butterfettes kann statt mit alkoholischem Kali auch nach folgendem Verfahren ausgeführt werden. Zu genau 5 *g* Butterfett gibt man in einem Kölbchen von etwa 300 cm^3 Inhalt 20 *g* Glyzerin und 2 cm^3 Natronlauge (erhalten durch Auflösen von 100 Gewichtsteilen Natriumhydroxyd in 100 Gewichtsteilen Wasser, Absetzenlassen des Ungelösten und Abgießen der klaren Flüssigkeit). Die Mischung wird unter beständigem Umschwenken über einer kleinen Flamme erhitzt; sie gerät alsbald ins Sieden, das mit starkem Schäumen verbunden ist. Wenn das Wasser verdampft ist (in der Regel nach 5—8 Minuten), wird die Mischung vollkommen klar; dies ist das Zeichen, daß die Verseifung des Fettes vollendet ist. Man erhitzt noch kurze Zeit und spült die an den Wänden des Kolbens haftenden Teilchen durch wiederholtes Umschwenken herab. Dann läßt man die flüssige Seife auf etwa 80—90° abkühlen und gibt 90 cm^3 Wasser hinzu. Meist entsteht sofort eine klare Seifenlösung; andernfalls bringt man die abgeschiedenen Seifenteile durch Erwärmen auf dem Wasserbade in Lösung. Man versetzt die Seifenlösung mit 50 cm^3 verdünnter Schwefelsäure (25 cm^3 konzentrierte Schwefelsäure im Liter enthaltend) und verfährt weiter wie vorher.

6. Bestimmung der Verseifungszahl (der *Köttstorfer*schen Zahl).

Man wägt bei Schmalz 2—2·5 *g*, bei den übrigen Fetten 1—2 *g* Fett in einem Kölbchen aus Jenaer Glas von 150 cm^3 Inhalt ab, setzt 25 cm^3 einer annähernd $^1/_2$-normalalkoholischen Kalilauge hinzu, verschließt das Kölbchen mit einem durchbohrten Korke, durch dessen Öffnung ein 75 *cm* langes Kühlrohr aus Kaliglas führt. Man erhitzt die Mischung auf dem kochenden Wasserbade 15 Minuten lang zum schwachen Sieden. Um die Verseifung zu vervollständigen, ist der Kolbeninhalt durch öfteres Umschwenken, jedoch unter Vermeidung des Verspritzens an den Kühlrohrverschluß, zu mischen. Man versetzt die vom Wasserbade genommene Lösung mit einigen Tropfen alkoholischer Phenolphtaleïnlösung und titriert die noch heiße Seifenlösung sofort mit $^1/_2$-Normalsalzsäure zurück. Die Grenze der Neutralisation ist sehr scharf; die Flüssigkeit wird beim Übergang in die saure Reaktion rein gelb gefärbt.

Bei jeder Versuchsreihe sind mehrere blinde Versuche in gleicher Weise, aber ohne Anwendung von Fett auszuführen, um den Wirkungswert der alkoholischen Kalilauge gegenüber der $^1/_2$-Normalsalzsäure festzustellen.

Aus den Versuchsergebnissen berechnet man, wieviel Milligramm Kaliumhydroxyd erforderlich sind, um 1 *g* des Fettes zu verseifen. Dies ist die Verseifungszahl oder *Köttstorfer*sche Zahl des Fettes.

Zu 5. und 6. Die Bestimmung der *Reichert-Meissl*schen und *Köttstorfer*schen Zahl kann auch in folgender Weise verbunden werden.

Man löst 20 Gewichtsteile möglichst blanke Stangen mit Alkohol gereinigten Ätzkalis in etwa 60 Gewichtsteilen absolutem Alkohol durch anhaltendes Schütteln in einer verschlossenen Flasche auf. Dann läßt man absetzen und gießt die obere klare Lösung durch Glaswolle oder Asbest ab. Ihr Gehalt an Kaliumhydroxyd wird bestimmt und die Lösung darauf so weit mit Wasser und Alkohol verdünnt, daß sie in je 10 *cm*³ etwa 1·3 *g* Kaliumhydroxyd und einen Alkoholgehalt von ungefähr 70 Vol.-% aufweist.

Ferner vermischt man verdünnte Schwefelsäure mit Wasser und Alkohol in der Weise, daß eine alkoholische Normalschwefelsäure in 70 vol.-%igem Alkohol (49 *g* Schwefelsäure im Liter) erhalten wird.

Genau 5 *g* Butterfett werden darauf in einem starkwandigen Kolben von Jenaer Glas von etwa 300 *cm*³ Inhalt abgewogen und mit einer genau geeichten Pipette 10 *cm*³ der vorstehend beschriebenen alkoholischen Kalilauge vorsichtig hinzugemessen, dann wartet man 1—2 Minuten, bevor man auf den Ablaufstrich genau einstellt. Der Kolben wird sodann mit einem 1 *m* langen, ziemlich weiten Glasrohre versehen, welches oben durch ein *Bunsen*sches Ventil abgeschlossen ist, und auf ein siedendes Wasserbad gebracht.

Sobald der Alkohol in das Kühlrohr destilliert und die ersten Tropfen zurücklaufen, schwenkt man den Kolben über dem Wasserbade kräftig, jedoch unter Vermeidung des Verspritzens an den Kühlrohrverschluß, so lange um, bis alles gelöst ist. Dann setzt man den Kolben noch mindestens 5, höchstens 10 Minuten lang auf das Wasserbad, schwenkt während dieser Zeit noch einige Male gelinde um und hebt den Kolben vom Wasserbade. Nachdem der Kolbeninhalt soweit erkaltet ist, daß kein Alkohol mehr aus dem Kühlrohre zurücktropft, läßt man durch das *Bunsen*sche Ventil Luft eintreten, nimmt das Kühlrohr ab und titriert sofort nach Zusatz von 3 Tropfen Phenolphtaleïnlösung mit der alkoholischen Normalschwefelsäure bis zur rotgelben Farbe. Dann setzt man noch 0·5 *cm*³ Phenolphtaleïnlösung zu und titriert mit einigen Tropfen der alkoholischen Normalschwefelsäure scharf bis zur reingelben Farbe. Die verbrauchten Kubikzentimeter Schwefelsäure werden abgezogen von der in einem blinden Versuche für 10 *cm*³ Kalilauge ermittelten Säuremenge, und die Differenz wird durch Multiplikation mit 0·2 × 56·14 = 11·23 auf die Verseifungszahl umgerechnet.

Beispiel: 10 *cm*³ alkoholische Kalilauge = 22·80 *cm*³ alkoholische Normalschwefelsäure.

5·0 *g* verseiftes Butterfett zurücktitriert mit 2·95 *cm*³ Schwefelsäure.

Somit 22·80 — 2·95 = 19·85, und 19·85 × 11·23 = 222·9 Verseifungszahl.

Zu dem Kolbeninhalte werden darauf etwa 10 Tropfen der alkoholischen Kalilauge hinzugegeben, und der Alkohol wird im Wasserbad unter Schütteln des Kolbens, schließlich durch Einblasen von Luft, in möglichst kurzer Zeit vollständig verjagt. Die trockene Seife wird in 100 *cm*³ kohlensäurefreiem Wasser unter Erwärmen gelöst und auf etwa 50° abgekühlt. Das Ansäuern mit Schwefelsäure, das Übertreiben und Titrieren der flüchtigen Säuren, sowie die Berechnung der *Reichert-Meissl*schen Zahl und die Ausführung des blinden Versuches geschieht, wie unter 5 angegeben ist.

7. Bestimmung der Jodzahl nach *v. Hübl*.

Erforderliche Lösungen.

1. Es werden 25 *g* Jod, bzw. 30 *g* Quecksilberchlorid in je 500 *cm*³ fuselfreien Alkohol von 95 Volumprozent gelöst. Die zweite Lösung wird filtriert, und beide werden getrennt aufbewahrt. Die Mischung der Lösungen erfolgt zu gleichen Teilen und mindestens 48 Stunden vor dem Gebrauche.

2. Natriumthiosulfatlösung. Sie enthält im Liter etwa 25 *g* des Salzes. Die bequemste Methode zur Titerstellung ist die *Volhard*sche: 3·8666 *g* wiederholt umkristallisiertes Kaliumbichromat löst man zum Liter auf. Man gibt 15 *cm*³ einer 10%igen Jodkaliumlösung in ein dünnwandiges Kölbchen mit eingeriebenem Glasstopfen von etwa 250 *cm*³ Inhalt, säuert mit 5 *cm*³ konzentrierter Salzsäure an und verdünnt mit 100 *cm*³ Wasser. Unter tüchtigem Umschütteln fügt man hierauf 20 *cm*³ der Kaliumbichromatlösung zu. Jeder Kubikzentimeter von dieser macht genau 0·01 *g* Jod frei. Man läßt nun unter Umschütteln von der Natriumthiosulfatlösung zufließen, wodurch die anfangs stark braune Lösung immer heller wird, setzt, wenn sie nur noch weingelb ist, etwas Stärkelösung hinzu und läßt unter jeweiligem kräftigen Schütteln noch soviel Natriumthiosulfatlösung vorsichtig zufließen, bis der letzte Tropfen die Blaufärbung der Jodstärke eben zum Verschwinden bringt. Die Kaliumbichromatlösung läßt sich lange unverändert aufbewahren und ist stets zur Kontrolle des Titers der Natriumthiosulfatlösung zu verwenden, welcher besonders im Sommer öfters neu festzustellen ist.

Berechnung: Da 20 *cm*³ der Kaliumbichromatlösung 0·2 *g* Jod freimachen, wird die gleiche Menge Jod von der verbrauchten Anzahl Kubikzentimeter Natriumthiosulfatlösung gebunden. Daraus berechnet man, wieviel Jod 1 *cm*³ Natriumthiosulfatlösung entspricht. Die erhaltene Zahl, den Koeffizienten für Jod, bringt man bei allen folgenden Versuchen in Rechnung.

3. Chloroform, am besten eigens gereinigt.

4. 10%ige Jodkaliumlösung.

5. Stärkelösung:

Man erhitzt eine Messerspitze voll „löslicher Stärke“ in etwas destilliertem Wasser; einige Tropfen der unfiltrierten Lösung genügen für jeden Versuch.

Man bringt von Schmalz 0·6 bis 0·7 *g*, von den übrigen Fetten 0·8 bis 1 *g* geschmolzenes Fett in ein Kölbchen der unter Nr. 2 beschriebenen Art, löst das Fett in 15 *cm*³ Chloroform und läßt 30 *cm*³ Jodlösung (Nr. 1) zufließen, wobei man die Pipette bei jedem Versuch in genau gleicher Weise entleert. Sollte die Flüssigkeit nach dem Umschwenken nicht völlig klar sein, so wird noch etwas Chloroform hinzugefügt. Entfärbt sich die Flüssigkeit nach kurzer Zeit, so muß man noch Jodlösung zugeben. Die Jodmenge muß so groß sein, daß die Flüssigkeit noch nach zwei Stunden stark braun gefärbt ist. Nach dieser Zeit ist die Reaktion beendet. Die Versuche sind bei Temperaturen von 15 bis 18° anzustellen, und die Einwirkung direkten Sonnenlichtes ist zu vermeiden.

Man versetzt dann die Mischung mit 15 *cm*³ Jodkaliumlösung (Nr. 2), schwenkt um und fügt 100 *cm*³ Wasser hinzu. Scheidet sich hierbei ein roter Niederschlag aus, so war die Jodkaliummenge ungenügend, und man muß diesen Fehler durch weiteren Zusatz von Jodkalium verbessern. Man läßt nun unter Schütteln so lange Natriumthiosulfatlösung zufließen, bis die wässerige Flüssigkeit und die Chloroformschicht nur noch schwach gelb gefärbt ist. Jetzt wird etwas Stärkelösung zugegeben und zu Ende titriert. Mit jeder Versuchsreihe ist ein sogenannter blinder Versuch, d. h. ohne Anwendung eines Fettes zur Prüfung der Reinheit der Reagenzien (namentlich auch des Chloroforms) und zur Feststellung des Titers der Jodlösung zu verbinden.

Bei der Berechnung der Jodzahl ist der Verbrauch für den blinden Versuch in Abzug zu bringen. Man berechnet, wieviel Gramm Jod von 100 *g* Fett aufgenommen werden und erhält so die *Hübl*sche Jodzahl des Fettes.

Da sich bei der Bestimmung der Jodzahl die geringsten Versuchsfehler in besonders hohem Maße multiplizieren, so ist peinlich genaues Arbeiten erforderlich. Zum Abmessen der Lösungen sind genau eingeteilte Pipetten und Büretten und für jede Lösung ist stets das gleiche Meßinstrument zu verwenden.

8. Nachweis von Pflanzenölen im Schmalz nach *Bellier*.

5 *cm*³ geschmolzenes, filtriertes Fett werden mit 5 *cm*³ farbloser[1]) Salpetersäure vom spezifischen Gewicht 1·4 und 5 *cm*³ einer kalt gesättigten Lösung von Resorzin in Benzol in einer dickwandigen, mit Glasstopfen verschließbaren Probierröhre 5 Sekunden lang tüchtig durchgeschüttelt. Treten während des Schüttelns oder 5 Sekunden nach dem Schütteln rote, violette oder grüne Färbungen auf, so deuten diese auf die Anwesenheit von Pflanzenölen hin. Später eintretende Farbenerscheinungen sind unberücksichtigt zu lassen.

---

[1]) Zum Entfernen der nitrosen Gase in der Salpetersäure benutzt Verf. Harnstoff, welchen man der Säure zusetzt. Die Reaktion verläuft dann langsamer und die Farben treten deutlicher hervor.

9. Nachweis von Sesamöl.

α) Wenn keine Farbstoffe vorhanden sind, die sich mit Salzsäure rot färben, so werden 5 cm^3 geschmolzenes Fett in 5 cm^3 Petroleumäther gelöst und mit 0·1 cm^3 einer alkoholischen Furfurollösung (1 Raumteil farbloses Furfurol in 100 Raumteilen absolutem Alkohol) und mit 10 cm^3 Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1·19 mindestens $^1/_2$ Minute lang kräftig geschüttelt. Bei Anwesenheit von Sesamöl zeigt die am Boden sich abscheidende Salzsäure eine nur langsam verschwindende, deutliche Rotfärbung.

β) Wenn Farbstoffe vorhanden sind, die durch Salzsäure rot gefärbt werden, so werden 5 cm^3 geschmolzenes Fett in 10 cm^3 Petroleumäther gelöst und 2·5 cm^3 stark rauchende Zinnchlorürlösung zugesetzt. Die Mischung wird kräftig durchgeschüttelt, bis alles gleichmäßig gemischt ist (aber nicht länger), und die Mischung wird nun in Wasser von 40° getaucht. Nach Abscheidung der Zinnchlorürlösung taucht man die Mischung so weit in Wasser von 80°, daß dieses nur die Zinnchlorürlösung erwärmt, ein Sieden des Petroleumäthers aber vermieden wird. Bei Gegenwart von Sesamöl zeigt die Zinnchlorürlösung nach 3 Minuten langem Erwärmen eine deutliche Rotfärbung.

Die Zinnchlorürlösung stellt man in der Weise her, daß man 5 g krystallisiertes Zinnchlorür mit 1 g Salzsäure anrührt und die Mischung mit trockenem Chlorwasserstoffgas sättigt; nach dem Absetzen filtriert man durch Asbest und bewahrt das Präparat in kleinen Fläschchen mit Glasverschluß auf, die möglichst ganz gefällt sein müssen.

γ) Bei der Untersuchung von Margarine auf den vorgeschriebenen Gehalt an Sesamöl werden, wenn keine Farbstoffe vorhanden sind, die sich mit Salzsäure rot färben, 0·5 cm^3 des geschmolzenen, klar filtrierten Fettes in 9·5 cm^3 Petroleumäther gelöst und ebenso geprüft.

Wenn Farbstoffe vorhanden sind, die durch Salzsäure rot gefärbt werden, so löst man 1 cm^3 des geschmolzenen, klar filtrierten Margarinefettes in 19 cm^3 Petroleumäther und schüttelt diese Lösung in einem kleinen, zylindrischen Scheidetrichter mit 5 cm^3 Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1·124 etwa $^1/_2$ Minute lang. Die unten sich ansammelnde rot gefärbte Salzsäureschicht läßt man abfließen und wiederholt dieses Verfahren, bis die Salzsäure nicht mehr rot gefärbt wird. Dann läßt man die Salzsäure abfließen und prüft 10 cm^3 der Petroleumätherlösung nach dem unter α angegebenen Verfahren.

Hat die Margarine den vorgeschriebenen Gehalt an Sesamöl von der vorgeschriebenen Beschaffenheit, so muß in jedem Falle die Sesamölreaktion noch deutlich eintreten.

10. Nachweis von Baumwollsamenöl.

5 cm^3 Fett werden mit 5 cm^3 Amylalkohol und 5 cm^3 einer 1%igen Lösung von Schwefel in Schwefelkohlenstoff in einem weiten, mit Korkverschluß und weitem Steigrohre versehenen Reagenzglas etwa $^1/_4$ Stunde lang im siedenden Wasserbad erhitzt. Entsteht keine rosa oder rote Fär-

bung, so setzt man nochmals 5 *cm*³ der Schwefellösung zu und erhitzt von neuem ¼ Stunde lang. Eine deutliche Rotfärbung kann durch Baumwollsamenöl bedingt sein.

11. **Bestimmung der unlöslichen Fettsäuren** (der *Hehner*schen Zahl).

3 bis 4 *g* Fett werden in einer Porzellanschale von etwa 10 *cm* Durchmesser mit 1 bis 2 *g* Ätznatron und 50 *cm*³ Alkohol versetzt und unter öfterem Umrühren auf dem Wasserbad erwärmt, bis das Fett vollständig verseift ist. Die Seifenlösung wird bis zur Sirupdicke eingedampft, der Rückstand in 100 bis 150 *cm*³ Wasser gelöst und mit Salzsäure oder Schwefelsäure angesäuert. Man erhitzt, bis sich die Fettsäuren als klares Öl an der Oberfläche gesammelt haben, und filtriert durch ein vorher bei 100° getrocknetes und gewogenes Filter aus sehr dichtem Papiere. Um ein trübes Durchlaufen der Flüssigkeit zu vermeiden, füllt man das Filter zunächst zur Hälfte mit heißem Wasser an und gießt erst dann die Flüssigkeit mit den Fettsäuren darauf. Man wäscht mit etwa 2 Liter siedendem Wasser aus, wobei man stets dafür sorgt, daß das Filter nicht vollständig abläuft.

Nachdem die Fettsäuren erstarrt sind, werden sie mit dem Filter in ein Wägegläschen gebracht und bei 100° C bis zum konstanten Gewichte getrocknet, oder sie werden in Äther gelöst, in einem tarierten Kölbchen nach dem Abdestillieren des Äthers getrocknet und gewogen. Aus dem Ergebnisse berechnet man, wieviel Gewichtsteile unlösliche Fettsäuren in 100 Gewichtsteilen Fett enthalten sind, und erhält die *Hehner*sche Zahl.

12. **Prüfung auf Phytosterin.**

Die Prüfung auf Phytosterin ist in folgender Weise auszuführen:

100 *g* Fett werden in einem Kolben von 1 Liter Inhalt auf dem Wasserbade geschmolzen und mit 200 *cm*³ alkoholischer Kalilauge, welche in 1 Liter Alkohol von 70 Volumprozent 200 *g* Kaliumhydroxyd enthält, auf dem kochenden Wasserbad am Rückflußkühler verseift. Nach beendeter Verseifung, die etwa ½ Stunde erfordert, wird die Seifenlösung mit 600 *cm*³ Wasser versetzt und nach dem Erkalten in einem Schütteltrichter viermal mit Äther ausgeschüttelt. Zur ersten Ausschüttelung verwendet man 800 *cm*³, zu den folgenden je 400 *cm*³ Äther. Der Äther wird abdestilliert und der Rückstand nochmals mit 10 *cm*³ obiger Kalilauge 5 bis 10 Minuten im Wasserbad erhitzt, mit 20 *cm*³ Wasser versetzt und nach dem Erkalten zweimal mit je 100 *cm*³ Äther ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wird viermal mit je 10 *cm*³ Wasser gewaschen, durch ein trockenes Filter filtriert und der Äther abdestilliert. Der Rückstand wird in ein etwa 8 *cm*³ fassendes zylinderförmiges, mit Glasstopfen versehenes Gläschen gebracht und bei 100° getrocknet. Der erkaltete Rückstand wird mit 1 *cm*³ unterhalb 50° siedenden Petroleumäthers übergossen und mit einem Glasstabe zu einer pulverförmigen Masse zerdrückt. Dann wird das verschlossene Gläschen 20 Minuten lang im Wasser von 15 bis 16° gestellt, worauf man den Inhalt in einen kleinen, mit Wattestopfen versehenen Trichter bringt und diesen mit einem Uhrglase bedeckt. Nachdem die

klare Flüssigkeit abgetropft ist, werden Glasstab, Gläschen und Trichterinhalt fünfmal mit je 0·5 cm^3 kaltem Petroleumäther nachgewaschen. Der am Glasstabe, im Gläschen und Trichter verbliebene Rückstand wird in Äther gelöst, in ein Glasschälchen gebracht und nach dem Verdunsten des Äthers bei 100° getrocknet. Darauf setzt man 1 bis 2 cm^3 Essigsäureanhydrid hinzu, erhitzt unter Bedecken des Schälchens mit einem Uhrglase auf dem Drahtnetz etwa $^1/_2$ Minute lang zum Sieden und verdunstet den Überschuß des Essigsäureanhydrids auf dem Wasserbade. Der Rückstand wird drei- bis viermal aus geringen Mengen, etwa 1 cm^3 absolutem Alkohol umkristallisiert. Die einzelnen Kristallisationsprodukte werden mittelst eines kleinen Platinkonus, der an seinem spitzen Ende mit zahlreichen, äußerst kleinen Löchern versehen ist, durch Absaugen von den Mutterlaugen getrennt. Von der zweiten Kristallisation ab wird jedesmal der Schmelzpunkt bestimmt. Schmilzt das letzte Kristallisationsprodukt erst bei 117° (korrigierter Schmelzpunkt) oder höher, so ist der Nachweis von Pflanzenöl als erbracht anzusehen.

Der Nachweis des Phytosterins ist deshalb für die Nahrungsmittelchemie von großer Wichtigkeit, weil es auf diesem Wege mit Sicherheit gelingt, pflanzliche Fette und Öle von tierischen zu unterscheiden. Dies ist eine Frage, welche sehr häufig zu beantworten ist.

Das beschriebene Verfahren der Phytosterinbestimmung ist aber insofern nicht vollkommen, weil man mit großen Äthermengen arbeiten muß, weil die Ausbeute nicht sehr groß ist und weil man ziemlich lange warten muß, bis sich der Äther von der Seifenlösung getrennt hat. Auch das Abdestillieren großer Äthermengen ist in beengten Laboratorien nicht angenehm.

Im Ätherverbrauch sparsamer ist das Verfahren von *Klostermann*[1]), welches zugleich eine bessere Ausbeute liefert. Es beruht auf der Beobachtung von *Windaus*[2]), daß Cholesterin und Phytosterin mit Digitonin Verbindungen geben, welche in kaltem Alkohol und Äther unlöslich sind.

Die Isolierung der Sterine aus den Fetten kann allerdings nicht ohne vorherige Verseifung vorgenommen werden, da die Ester der Sterine mit Digitonin nicht reagieren und die Sterine zum größten Teil als Ester der Fettsäuren vorhanden sind.

Man verseift 100 *g* mit 200 cm^3 alkoholischer Kalilauge, welche in 1 Liter Alkohol von 70 Vol.-% 200 *g* Kaliumhydroxyd enthält. Eine vollständige Verseifung ist nicht unbedingt erforderlich, es schadet nichts, wenn etwas Fett unverseift bleibt, da es in diesem Falle auf quantitative Ausbeute nicht ankommt.

Die Seifenlösung wird mit 300 cm^3 Wasser versetzt und noch warm in einen Schütteltrichter gebracht. Dann fügt man 100 cm^3 Salzsäure von 25% hinzu, um die Fettsäuren abzuscheiden, und nimmt diese mit 300 cm^3 Äther auf, nachdem die Flüssigkeit vorher mit Wasser abgekühlt worden

[1]) Noch nicht veröffentlicht.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. **65**, S. 110 (1910).

ist. Die wässerige Lösung wird abgelassen und die ätherische noch 3mal mit je 50 cm^3 Wasser ausgewaschen. Dann setzt man 300 cm^3 Petroläther zu und wartet, bis die Mischung klar geworden ist, was durch Zusatz von Kochsalz beschleunigt werden kann. Darauf bringt man die ätherische Lösung in einen Kolben und fügt eine Auflösung von 1—1·5 *g* Digitonin in Alkohol von 70%, hinzu. Beim Schütteln bildet sich ein Niederschlag, welcher sich sofort absetzt. Man läßt etwa 1/4 Stunde stehen, bis die überstehende Flüssigkeit klar geworden ist, und filtriert durch eine größere Nutsche, welche mit einem Blatte guten, schwedischen Filtrierpapiers belegt ist. Der Rückstand wird mit Alkohol von 50%, dann mit solchem von 94% und schließlich mit Äther gut ausgewaschen, bis er vollständig fettfrei ist. Der Niederschlag besteht aus einer Doppelverbindung von Digitonin und Cholesterin, resp. Phytosterin.

$$C_{27} H_{46} O + C_{55} H_{94} O_{28} = C_{82} H_{140} O_{29}$$

1 Cholesterin + 1 Digitonin = Digitoninsterid.

Die Doppelverbindung ist ziemlich fest und kann nur bei höherer Temperatur durch geeignete Lösungsmittel getrennt werden. Man benutzt hierzu gewöhnlich das Xylol. Um die Sterine zu gewinnen, verreibt man den Filterrückstand mit Seesand und bringt ihn in einen geeigneten Extraktionsapparat für höhere Temperaturen. Ist eine genügende Menge ausgezogen worden, so läßt man das Xylol vollständig erkalten und filtriert von den geringen Mengen Digitonin, welche sich ausscheiden, ab. Dann wird das Xylol mit siedendem Wasserdampf abdestilliert, wobei sich die letzten Reste von Digitonin in Wasser lösen und das Cholesterin als ölige Masse an der Oberfläche schwimmt. Man filtriert durch Watte und wäscht mit Alkohol von 50% aus. Auf diese Weise wird das Digitonin vollständig entfernt. Dann löst man den Rückstand mit Petroläther auf, filtriert die Lösung in ein Glasschälchen und trocknet nach dem Verdunsten des Äthers bei 100°.

Die weitere Azetylierung und die Bestimmung des Schmelzpunktes erfolgt in derselben Weise, wie vorher beschrieben worden ist. Aus dem Extraktionsrückstand kann man auch das Digitonin wiedergewinnen, durch Umkristallisieren reinigen und zu weiteren Bestimmungen verwenden.

Will man auf die Wiedergewinnung verzichten, so läßt sich die Prüfung noch wesentlich abkürzen, indem man folgendermaßen verfährt:

Das Digitoninsterid wird von der Nutsche abgenommen, was sehr leicht gelingt, da es am Filtrierpapier nicht haftet. Es bildet dann eine hornartige, spröde Masse, welche man in einem Achatmörser zerreibt und in ein Kölbchen von etwa 50 cm^3 Inhalt bringt. Hierzu fügt man 10—20 cm^3 Essigsäureanhydrid, eventuell auch mehr, und kocht die Aufschwemmung so lange, bis alles gelöst ist. Dann gießt man die Lösung in eine größere Glasschale mit flachem Boden um und verdunstet das überschüssige Anhydrid auf dem Wasserbade. Bei diesem Verfahren ist die Doppelverbindung aufgespalten und das Sterid zugleich azetyliert worden. Da das Digitonin auf die Ester der Sterine nicht einwirkt, so kann auch eine Rückbildung

der Doppelverbindung nach dem Erkalten nicht erfolgen. Bei dieser Behandlung ist auch das Digitonin weitgehend verändert worden, und zwar ist wahrscheinlich eine Diazetylverbindung des Digitogenins entstanden. Zur Trennung wird der Rückstand in 50 *cm*³ Alkohol aufgelöst und die Lösung mit 50 *cm*³ heißem Wasser versetzt. Nach dem Erkalten scheidet sich das Sterinazetat fast rein ab und wird durch ein Filter abfiltriert und ausgewaschen. Den Rückstand löst man in Petroläther, bringt ihn wieder in die Schale zurück und verdunstet den Äther. Wenn es nötig ist, muß diese Trennung nochmals wiederholt werden; schließlich nimmt man den Schalenrückstand nach dem Trocknen bei 100° nochmals mit Petroläther auf, filtriert vom Ungelösten ab und hat nun reichliche Mengen der reinen Azetylsteride vor sich, welche durch Umkristallisieren aus absolutem Alkohol und Bestimmung des Schmelzpunktes auf Phytosterinazetat geprüft werden. Gewöhnlich zeigt, bei Gegenwart von 5% Pflanzenfetten, schon die erste oder zweite Kristallisation Schmelzpunkte von über 117°, die sich beim weiteren Umkristallisieren noch erhöhen.

13. Bestimmung der freien Fettsäuren (des Säuregrades).

5—10 *g* werden in 30—40 *cm*³ einer säurefreien Mischung gleicher Raumteile Alkohol und Äther gelöst und unter Verwendung von Phenolphtaleïn (in 1%iger alkoholischer Lösung) als Indikator mit ¹/₁₀-Normalalkalilauge titriert. Die freien Fettsäuren werden in Säuregraden ausgedrückt. Unter Säuregrad eines Fettes versteht man die Anzahl Kubikzentimeter Normalalkali, die zur Sättigung von 100 *g* Fett erforderlich sind.

Sollte während der Titration ein Teil des Fettes sich ausscheiden, so muß von der Äther-Alkoholmischung von neuem zugesetzt werden.

14. Prüfung auf Konservierungsmittel.

A. Nachweis von Borsäure und ihren Salzen.

50 *g* Fett werden in einem Erlenmeyerkolben von 250 *cm*³ Inhalt auf dem Wasserbade geschmolzen und mit 30 *cm*³ Wasser von etwa 50° und 0·2 *cm*³ Salzsäure vom spez. Gew. 1·124 eine halbe Minute lang kräftig durchgeschüttelt. Alsdann wird der Kolben so lange auf dem Wasserbad erwärmt, bis sich die wässerige Flüssigkeit abgeschieden hat. Die Flüssigkeit wird durch Filtrieren von dem Fett getrennt. 25 *cm*³ des Filtrates werden nach S. 159 weiter behandelt.

B. Nachweis von Formaldehyd und solchen Stoffen, welche bei ihrer Verwendung Formaldehyd abgeben.

50 *g* Fett werden in einem Kolben von etwa 550 *cm*³ Inhalt mit 50 *cm*³ Wasser und 10 *cm*³ 25%iger Phosphorsäure versetzt und erwärmt. Nachdem das Fett geschmolzen ist, destilliert man unter Einleiten von Wasserdampf 50 *cm*³ ab. Das filtrierte Destillat ist nach S. 160 weiter zu behandeln.

Durch den positiven Ausfall der Quecksilberchloridreaktion ist der Nachweis des Formaldehyds erbracht.

C. Nachweis von Alkali- und Erdalkalihydroxyden und -karbonaten.

a) 30 *g* geschmolzenes Fett werden mit der gleichen Menge Wasser in einem mit Rückflußkühler versehenen Kolben von etwa 250 *cm*³ Inhalt vermischt. In das Gemisch wird ½ Stunde lang Wasserdampf eingeleitet. Nach dem Erkalten wird der wässerige Auszug filtriert.

b) Das zurückbleibende Fett nebst Filter werden nach Zusatz von 5 *cm*³ Salzsäure vom spez. Gew. 1·124 in gleicher Weise, wie unter *a)* angegeben, behandelt.

Wird kein klares Filtrat erhalten, so bringt man das trübe Filtrat in einen Schütteltrichter, fügt auf je 20 *cm*³ der Flüssigkeit 1 *g* Kaliumchlorid hinzu und schüttelt mit 10 *cm*³ Petroleumäther etwa 5 Minuten lang aus. Nach dem Abscheiden der wässerigen Flüssigkeit filtriert man diese durch ein angefeuchtetes Filter. Nötigenfalls wird das anfangs trübe ablaufende Filtrat so lange zurückgegossen, bis es klar abläuft.

Das klare Filtrat von *a)* ist auf 25 *cm*³ einzudampfen und nach dem Erkalten mit verdünnter Salzsäure anzusäuern. Bei Gegenwart von Alkaliseife scheidet sich Fettsäure aus, die mit Äther auszuziehen und nach dessen Verdunsten als solche zu kennzeichnen ist. Entsteht jedoch beim Ansäuern eine in Äther schwer lösliche oder gelblich-weiße Abscheidung, so ist diese nach *D* unter *b)* auf Schwefel zu prüfen.

Das klare Filtrat von *b)* wird durch Zusatz von Ammoniakflüssigkeit und Ammoniumkarbonatlösung auf alkalische Erden geprüft.

Entsteht keine Fällung, dann ist die Flüssigkeit auf 25 *cm*³ einzudampfen und durch Zusatz von Ammoniakflüssigkeit und Natriumphosphatlösung auf Magnesium zu prüfen.

D. Nachweis von schwefliger Säure, ihren Salzen und von unterschwefligsauren Salzen.

30 *g* Fett werden nach S. 161 behandelt. Während des Erwärmens und auch während des Erkaltens wird der Kolben wiederholt vorsichtig geschüttelt.

Tritt eine Bläuung des Papierstreifens ein, dann ist der entscheidende Nachweis der schwefligen Säure durch nachstehendes Verfahren zu erbringen.

a) Zur Bestimmung der schwefligen Säure und der schwefligsauren Salze werden 50 *g* geschmolzenes Fett in einem Destillierkolben von 500 *cm*³ Inhalt mit 50 *cm*³ Wasser vermischt. Der Kolben wird darauf mit einem dreimal durchbohrten Stopfen verschlossen, durch welchen drei Glasröhren in das Innere des Kolbens führen. Von diesen Röhren reichen zwei bis auf den Boden des Kolbens, die dritte nur bis in den Hals. Diese letzte Röhre führt zu einem *Liebig*schen Kühler und an diesen schließt sich luftdicht mittelst durchbohrten Stopfens eine kugelig aufgeblasene U-Röhre (sogenannte *Peligot*sche Röhre).

Man leitet durch eine der bis auf den Boden des Kolbens führenden Glasröhren Kohlensäure, bis alle Luft aus dem Apparat verdrängt ist.

bringt dann in die *Péligot*sche Röhre 50 *cm*³ Jodlösung (erhalten durch Auflösen von 5 *g* reinem Jod und 7·5 *g* Kaliumjodid in Wasser zu 1 *l*; die Lösung muß sulfatfrei sein), lüftet den Stopfen des Destillationskolbens und läßt, ohne das Einströmen der Kohlensäure zu unterbrechen, schnell 10 *cm*³ einer wässerigen 25%igen Lösung von Phosphorsäure hinzufließen. Dann leitet man durch die dritte Glasröhre Wasserdampf ein und destilliert unter stetigem Durchleiten von Kohlensäure und Wasserdampf 50 *cm*³ über. Man verfährt weiter, wie S. 162 angegeben ist.

Lieferte die Prüfung ein positives Ergebnis, so ist das Fett als mit schwefliger Säure, schwefligsauren Salzen oder unterschwefligsauren Salzen behandelt zu betrachten. Liegt ein Anlaß vor, festzustellen, ob die schweflige Säure unterschwefligsauren Salzen entstammt, so ist in folgender Weise zu verfahren:

b) 50 *g* geschmolzenes Fett werden mit der gleichen Menge Wasser in einem mit Rückflußkühler versehenen Kolben von etwa 500 *cm*³ Inhalt vermischt. In das Gemisch wird eine halbe Stunde lang strömender Wasserdampf eingeleitet, der wässerige Auszug wird nach dem Erkalten filtriert und das Filtrat mit Salzsäure versetzt. Entsteht hierbei eine in Äther schwer lösliche Abscheidung, so wird diese auf Schwefel untersucht. Zu dem Zwecke wird der abfiltrierte und gewaschene Bodensatz nach S. 163 weiter behandelt.

E. Nachweis von Fluorwasserstoff und seinen Salzen.

30 *g* geschmolzenes Fett werden mit der gleichen Menge Wasser in einem mit Rückflußkühler versehenen Kolben von etwa 500 *cm*³ Inhalt vermischt. In das Gemisch wird eine halbe Stunde lang strömender Wasserdampf eingeleitet, der wässerige Auszug wird nach dem Erkalten filtriert, und das Filtrat wird ohne Rücksicht auf eine etwa vorhandene Trübung mit Kalkmilch bis zur stark alkalischen Reaktion versetzt. Nach dem Absetzen und Filtrieren wird der Rückstand getrocknet, zerrieben, in einen Platintiegel gegeben und nach der Vorschrift S. 163 weiter behandelt.

F. Nachweis von Salizylsäure und ihren Verbindungen.

Man mischt in einem Probierröhrchen 4 *cm*³ Alkohol von 20 Vol.-% mit 2—3 Tropfen einer frisch bereiteten 0·05%igen Eisenchloridlösung, fügt 2 *cm*³ geschmolzenes Fett hinzu und mischt die Flüssigkeiten, indem man das verschlossene Probierröhrchen 40—50mal umschüttelt. Bei Gegenwart von Salizylsäure färbt sich die untere Schicht violett.

G. Nachweis fremder Farbstoffe.

Die Gegenwart fremder Farbstoffe erkennt man durch Auflösen des geschmolzenen Fettes (50 *g*) in absolutem Alkohol (75 *cm*³) in der Wärme. Bei künstlich gefärbten Fetten bleibt die unter Umschütteln im Eis abgekühlte und filtrierte alkoholische Lösung deutlich gelb oder rötlichgelb gefärbt. Die alkoholische Lösung ist in einem Probierrohre von 18—20 *mm* Weite im durchfallenden Lichte zu beobachten.

Zum Nachweise bestimmter Teerfarbstoffe werden 5 *g* Fett in 10 *cm*³ Äther oder Petroleumäther gelöst. Die Hälfte der Lösung wird in einem

Probierröhrchen mit 5 *cm*³ Salzsäure vom spez. Gew. 1·124, die andere Hälfte mit 5 *cm*³ Salzsäure vom spez. Gew. 1·19 kräftig durchgeschüttelt. Bei Gegenwart gewisser Azofarbstoffe ist die untere Salzsäureschicht deutlich rot gefärbt.

1. Butter und Butterschmalz.

Butter ist das aus der Milch abgeschiedene, erstarrte Fett, welchem ungefähr 15% Magermilch in feinster Verteilung beigemischt ist.

Das Butterfett unterscheidet sich von anderen tierischen Fetten dadurch, daß es neben den Glyzeriden der höheren Fettsäuren (Öl-, Palmitin- und Stearinsäure) auch eine größere Menge von Glyzeriden der niederen, flüchtigen Fettsäuren (Buttersäure, Kapron-, Kapryl- und Kaprinsäure etc.) enthält.

Die mittlere Zusammensetzung der Butter ist folgende:

Fett	Wasser	Kaseïn	Milchzucker	Milchsäure	Mineralstoffe[1]
84·30	13·68	0·74	0·5	0·12	0·66

1. Bestimmung des Wassers.

5 *g* Butter, die von möglichst vielen Stellen des Stückes zu entnehmen sind, werden in eine mit ausgeglühtem Bimssteinpulver beschickte, tarierte Nickelschale eingewogen, indem man mit einem blanken Messer dünne Scheiben der Butter am Schalenrand abstreift; hierbei ist für möglichst gleichmäßige Verteilung Sorge zu tragen. Die Schale wird in einen *Soxhlet*schen Trockenschrank mit Glyzerinfüllung oder einen Vakuumtrockenapparat gestellt. Nach einer halben Stunde wird die Gewichtsabnahme festgestellt; weitere Wägungen erfolgen nach je 10 Minuten, bis keine Abnahme mehr zu bemerken ist; zu langes Trocknen ist zu vermeiden, da sonst durch Oxydation des Fettes wieder Gewichtszunahme beobachtet wird.

Zur schnellen Prüfung von Butter auf Wassergehalt werden in einer Nickelschale 10 *g* Butter abgewogen und auf freier Flamme, die aber den Boden der Schale nicht berühren darf, so lange erwärmt, bis die Masse zu knistern aufhört. Der Gewichtsverlust entspricht dem Wassergehalt. Diese Bestimmungsart ist nicht genau, sie gibt aber annähernde Werte und wird als Vorprobe viel benutzt.

2. Bestimmung von Kaseïn, Milchzucker und Mineralbestandteilen.

5—10 *g* Butter werden zunächst in einer Schale unter häufigem Umrühren etwa 6 Stunden im Trockenschranke bei 100° C vom größten Teile des Wassers befreit; nach dem Erkalten wird das Fett in absolutem Alkohol und Äther gelöst, der Rückstand durch ein gewogenes Filter von bekanntem Aschengehalte filtriert und mit Äther gut nachgewaschen.

---

[1] Bei der Mittelwertberechnung der Mineralstoffe sind nur Butterproben mit höchstens 2% Kochsalz berücksichtigt worden.

Der getrocknete und gewogene Filterinhalt ergibt die Menge des wasserfreien Nichtfettes (Kaseïn + Milchzucker + Mineralbestandteile).

Zur Bestimmung der Mineralbestandteile wird das Filter mit Inhalt in einer Platinschale über kleiner Flamme verkohlt. Die Kohle wird mit Wasser angefeuchtet, zerrieben und mit heißem Wasser wiederholt ausgewaschen; den wässerigen Auszug filtriert man durch ein kleines Filter von bekanntem Aschengehalte. Nachdem die Kohle ausgelaugt ist, bringt man das Filterchen wieder in die Platinschale, trocknet und verascht. Darauf gibt man die filtrierte Lösung ebenfalls in die Platinschale zurück, verdampft nach Zusatz von etwas Ammoniumkarbonat zur Trockene, glüht ganz schwach, läßt im Exsikkator erkalten und wägt.

Zieht man den gefundenen Gehalt an Mineralbestandteilen von der Gesamtmenge von Kaseïn + Milchzucker + Mineralbestandteilen ab, so erhält man die Menge des „organischen Nichtfettes", das im wesentlichen aus Kaseïn und Milchzucker besteht.

Die Bestimmung des Chlors erfolgt entweder gewichtsanalytisch oder maßanalytisch in dem wässerigen Auszuge der Asche beziehungsweise bei hohem Kochsalzgehalte in einem abgemessenen Teile des auf ein bestimmtes Volumen gebrachten Aschenauszuges nach folgendem Verfahren:

a) Gewichtsanalytisch.

Der wässerige Auszug der Asche oder ein abgemessener Teil davon wird mit Salpetersäure angesäuert und das Chlor mit Silbernitratlösung gefällt. Der Niederschlag von Chlorsilber wird auf einem Filter von bekanntem Aschengehalte gesammelt und bei 100° getrocknet; dann wird das Filter in einem gewogenen Porzellantiegel verbrannt. Nach dem Erkalten befeuchtet man den Rückstand mit einigen Tropfen Salpetersäure und Salzsäure, verjagt die Säuren durch vorsichtiges Erhitzen, steigert dann die Hitze bis zum Schmelzen des Chlorsilbers und wägt nach dem Erkalten. Jedem Gramm Chlorsilber entsprechen 0·247 *g* Chlor oder 0·408 *g* Chlornatrium.

b) Maßanalytisch.

Man versetzt den wässerigen Aschenauszug oder einen abgemessenen Teil davon mit 1—2 Tropfen einer kalt gesättigten Lösung von neutralem, gelbem Kaliumchromat und titriert mit $^1/_{10}$-Normal-Silbernitratlösung; der Endpunkt der Titration ist erreicht, wenn eine nicht mehr verschwindende Rotfärbung auftritt. Jedem Kubikzentimeter $^1/_{10}$-Normalsilbernitratlösung entsprechen 0·003545 *g* Chlor oder 0·00585 *g* Chlornatrium.

Zur Bestimmung des Kaseïns wird aus einer zweiten etwa gleich großen Menge Butter durch Behandeln mit Alkohol und Äther und darauffolgendes Filtrieren durch ein schwedisches Filter die Hauptmenge des Fettes entfernt. Filter nebst Inhalt gibt man in ein Rundkölbchen aus Kaliglas, fügt 25 *cm*³ konzentrierte Schwefelsäure und 0·5 *g* Kupfersulfat hinzu und zerstört nach *Kjeldahl*. Alsdann übersättigt man, nach dem Verdünnen, in einem geräumigen Destillierkolben mit ammoniakfreier Natronlauge, destilliert das freigemachte Ammoniak über, fängt es in einer ab-

gemessenen Menge $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure auf und titriert die überschüssige Schwefelsäure mit $^1/_{10}$ Normalkalilauge zurück. Durch Multiplizieren der gefundenen Menge des Stickstoffes mit 6·25 erhält man die Menge des vorhandenen Kaseïns.

Der Milchzucker wird aus der Differenz von Kaseïn + Milchzucker + Mineralbestandteilen und den ermittelten Mengen von Kaseïn und Mineralbestandteilen berechnet.

3. Bestimmung des Fettes.

Der Fettgehalt der Butter wird mittelbar bestimmt, indem man die für Wasser, Kaseïn, Milchzucker und Mineralbestandteile gefundenen Werte von 100 abzieht.

4. Nachweis von Konservierungsmitteln.

Erfolgt nach den allgemeinen Bestimmungsmethoden für Fette und Öle, welche S. 200—202 angegeben sind.

Untersuchung des Butterfettes.

Zur Gewinnung des Butterfettes wird die Butter bei 50—60° C geschmolzen; das flüssige Fett wird nach einigem Stehen oder schneller nach dem Zentrifugieren durch ein trockenes Filter filtriert. Das geschmolzene, klar filtrierte Fett wird zu den weiteren Untersuchungen verwendet.

5. Bestimmung des Schmelz- und Erstarrungspunktes.
6. Bestimmung des Brechungsvermögens.
7. Bestimmung der freien Fettsäuren.
8. Bestimmung der *Reichert-Meissl*schen Zahl.
9. Bestimmung der *Köttstorfer*schen Zahl.
10. Bestimmung der *Hehner*schen Zahl.
11. Bestimmung der Jodzahl nach *v. Hübl*.
12. Bestimmung der unverseifbaren Bestandteile.
13. Nachweis fremder Farbstoffe.
14. Nachweis von Sesamöl.
15. Nachweis von Baumwollsamenöl.

Diese Verfahren sind am Eingang dieses Kapitels unter den allgemeinen Untersuchungsmethoden (S. 184—202) beschrieben worden.

16. Nachweis von Kokosfett.

Hierzu dient das Verfahren von *Polenske*[1], welches darauf beruht, daß das Kokosfett eine viel geringere Menge flüchtiger in Wasser löslicher Fettsäuren (Buttersäure) enthält, als Butter, dagegen eine größere Menge flüchtiger, in Wasser unlöslicher Fettsäuren (Capron-, Capryl- und Caprinsäuren). Nach den ursprünglichen Angaben von *Polenske* unterscheidet sich das Verfahren nicht wesentlich von der Bestimmung der *Reichert-Meissl*schen Zahl, und wird folgendermaßen ausgeführt.

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. S. 273 (1904).

In üblicher Weise werden 5 *g* klar filtriertes Butterfett, 20 *g* Glyzerin und 2 *cm*³ Natronlauge (1 : 1) über der Flamme in einem 300 *cm*³-Kolben von Jenaer Glas verseift. Die Seife wird in 90 *cm*³ vorher ausgekochten Wassers gelöst. Diese Lösung muß vollständig klar und fast farblos oder nur schwach gelblich gefärbt sein. Alle vertalgten und ranzigen Fette, die eine braune Seifenlösung geben, sind von der Untersuchung auszuschließen. Die auf etwa 50° erwärmte Seifenlösung wird zuerst mit 50 *cm*³ verdünnter Schwefelsäure (25 *cm*³ H_2SO_4 : 1 *l*), dann mit einer Messerspitze voll groben Bimssteinpulvers versetzt und nach sofortigem Verschluß des Kolbens der Destillation unterworfen. Es ist sehr zweckmäßig, die Flamme schon vorher so zu regulieren, daß das Destillat von 110 *cm*³ innerhalb 19—21 Minuten erhalten wird. Die Kühlung ist während der Destillationszeit auch so einzurichten, daß das Destillat keineswegs warm, aber auch nicht zu kalt, sondern mit einer unter gewöhnlichen Verhältnissen sich von selbst ergebenden Temperatur von etwa 20—23° abtropft.

Sobald das Destillat die Marke 110 der Vorlage erreicht hat, wird die Flamme entfernt und die Vorlage sofort durch einen Maßzylinder von 25 *cm*³ Inhalt ersetzt.

Ohne das Destillat zu mischen, setzt man den Kolben 10 Minuten lang so tief in Wasser von 15°, daß sich die 110-Marke etwa 3 *cm*³ unter der Oberfläche des Kühlwassers befindet. Nach fünf Minuten bewegt man den Kolbenhals im Wasser mehrmals nur so stark, daß die auf der Oberfläche des Destillates schwimmenden Säuren an die Wandungen des Halses gelangen. Nach 10 Minuten stellt man den Aggregatzustand der auf dem Destillate schwimmenden Säuren fest. Hierbei ist zu beobachten, ob diese: 1. aus einer festen oder halbweichen, trüben, formlosen Masse, oder 2. aus klaren Öltropfen bestehen. Dann wird das Destillat in dem mit Glasstopfen verschlossenen Kolben durch vier- bis fünfmaliges Umkehren, unter Vermeiden starken Schüttelns, gemischt und filtriert. Im Filtrat wird die *Reichert-Meissl*sche Zahl bestimmt. Das Filter von 8 *cm*³ Durchmesser muß fest und glatt an den Trichterwandungen anliegen.

Nachdem das Destillat ganz abfiltriert ist, wird das Filter sofort dreimal mit je 15 *cm*³ Wasser, wodurch es jedesmal bis zum Rande gefüllt wird, gewaschen. Dieses Waschwasser wird zugleich vorher zum dreimaligen Nachspülen des Kühlrohres, des Maßzylinders und des 110 *cm*³-Kolbens benutzt. Wenn das letzte Waschwasser, von dem die zuletzt abfließenden 10 *cm*³ durch 1 Tropfen $^1/_{10}$ N-Barytlauge neutralisiert werden müssen, abgetropft ist, wird derselbe Vorgang in gleicher Weise dreimal mit je 15 *cm*³ neutralem 90%igem Alkohol wiederholt.

Die in den vereinigten, alkoholischen Filtraten gelösten Fettsäuren werden darauf unter Zusatz von drei Tropfen Phenolphtaleïnlösung mit $^1/_{10}$ N-Barytlauge bis zur deutlichen Rötung titriert.

Die Zahl der zur Neutralisation verbrauchten Kubikzentimeter $^1/_{10}$ N-Barytlauge ist die der *Reichert-Meissl*schen Zahl entsprechende „Neue Butterzahl“ (*Polenske*sche Zahl).

Nach diesem Verfahren wurden bei reinen Butterfetten und reinen Kokosfetten folgende Ergebnisse erhalten:

	*Reichert-Meissl*sche Zahl	Neue Butterzahl
31 verschiedene Butterproben . .	23·3—30·1	1·5—3·0
4 Kokosfettproben	6·8—7·7	16·8—17·8

Aus diesen Zahlen ist ersichtlich, daß durch Zusatz von Kokosfett die *Reichert-Meissl*sche Zahl der Butter herabgesetzt und die „Neue Butterzahl" erhöht werden muß, und weitere Bestimmungen ergaben, daß Butter mit niedriger *Reichert-Meissl*scher Zahl auch eine niedrige „Neue Butterzahl" haben, und daß das Ansteigen der *Reichert-Meissl*schen Zahl und der „Neuen Butterzahl" in ziemlicher Regelmäßigkeit verläuft. Diese Beobachtung ist die Grundlage, auf die sich das Verfahren stützt.

Es erhöhen Zusätze von **Kokosfett** die „Neue Butterzahl" um folgende Werte:

Kokosfett-zusatz	Erhöhung der Neuen Butterzahl
10%	0·8—1·2, im Mittel 1·0
15%	1·4—1·8, „ „ 1·6
20%	1·0—2·2, „ „ 1·9

Die „Neue Butterzahl" wird daher durch Zusatz von 1% Kokosfett ungefähr um 0·1 erhöht. Enthält die Butter aber mehr als 20% Kokosfett, dann findet eine stärkere Erhöhung der Neuen Butterzahl statt.

Da die *Reichert-Meissl*sche Zahl für reine Butter gewöhnlich zwischen 20 und 30 liegt, so sind zunächst für dieses Intervall die entsprechenden *Polenske*-Zahlen festgestellt worden.

*Reichert-Meissl*sche Zahl	*Polenske*sche Zahl	Höchstzulässige *Polenske*sche Zahl	*Reichert-Meissl*sche Zahl	*Polenske*sche Zahl	Höchstzulässige *Polenske*sche Zahl
20—21	1·3—1·4	1·9	25—26	1·8—1·9	2·4
21—22	1·4—1·5	2·0	26—27	1·9—2·0	2·5
22—23	1·5—1·6	2·1	27—28	2·0—2·2	2·7
23—24	1·6—1·7	2·2	28—29	2·2—2·5	3·0
24—25	1·7—1·8	2·3	29—30	2·5—3·0	3·5

Hieraus ergibt sich, daß mit Zunehmen der *Reichert-Meissl*schen Zahl auch die *Polenske*-Zahl zunimmt. Zum Nachweis von Kokosfett vergleicht man die gefundene *Polenske*-Zahl mit der *Reichert-Meissl*schen Zahl in der Tabelle und erkennt dann sofort, wenn die *Polenske*-Zahl höher ist als für die entsprechende *Reichert-Meissl*sche Zahl angegeben ist, daß Kokosfett vorhanden ist. Man läßt aber einen Spielraum bis 0·5 nach oben hin

gelten, deshalb ist auch in der Tabelle die höchstzulässige *Polenske*-Zahl gleich mit angegeben. Wird diese Höchstzahl überschritten, so entspricht je 0·1 *cm*³ einem Zusatz von 1% Kokosfett, wobei die 0·5 *cm*³ nicht abgezogen werden, sondern der Gesamtbetrag auf Kokosfett umgerechnet wird.

W. Arnold[1]) hat ein kombiniertes Verfahren angegeben, um die *Köttstorfer*sche, die *Reichert-Meissl*sche und die *Polenske*-Zahl zusammen zu bestimmen.

5 *g* Fett werden in einem 300 *cm*³ fassenden *Schott*schen Kolben, dem das Kolbengewicht, vermehrt um 115 *g*, einvermerkt ist, mit 10 *cm*³ möglichst hellfarbiger *Bremer*scher Lauge auf dem Wasserbade verseift. Nachdem in der üblichen Weise die Verseifungszahl gefunden worden ist, fügt man 0·5 *cm*³ *Bremer*scher Lauge, genau 20 *g* Glyzerin und ein linsengroßes Paraffinstückchen zu. Der Alkohol wird durch Erhitzen über freier Flamme verjagt und der Kolbeninhalt durch Zusatz von ausgekochtem Wasser auf das dem Kolben einvermerkte Gewicht gebracht. Diese Seifenlösung wird mit 50 *cm*³ Schwefelsäure (25 : 1000) versetzt, worauf nach Zusatz einer starken Messerspitze von Bimssteinpulver (0·6 bis 0·7 *g*) genau 110 *cm*³ abdestilliert werden; die weiteren Arbeiten sind dieselben, wie sie in *Polenskes* Vorschrift angegeben worden sind, nur kann man an Stelle von $^1/_{10}$ N-Barytlauge auch $^1/_{10}$ N-Natron- oder Kalilauge verwenden.

Derselbe Verfasser[2]) macht ferner auf eine Reihe von Fehlerquellen, die bei der Bestimmung der *Polenske*-Zahl zu beachten sind, aufmerksam.

Der Apparat muß in allen seinen Teilen und Maßen den *Polenske*schen Vorschriften entsprechen, namentlich sind größere Kolben zu vermeiden. Eisendrahtnetze dürfen nicht verwendet werden, dagegen hat sich bewährt, den Kolben auf flachen Asbesttellern mit einem Kreisausschnitt von 6·5 *cm* Durchmesser zu erhitzen. Die Flamme darf nur den freien Kolbenboden, nicht aber den Asbestteller berühren.

Man verwendet nur Bimssteinpulver, nicht grobe Stücke.

Das Volumen des Destillates muß genau 110 *cm*³ betragen. Ebenso müssen genau 20 *g* Glyzerin zugesetzt werden.

Die beste Kontrolle für richtiges Arbeiten liefert unverfälschtes Schweinefett, dessen *Polenske*-Zahl zwischen 0·4 und 0·6 liegt.

17. Bestimmung des mittleren Molekulargewichtes der nicht flüchtigen, wasserunlöslichen Fettsäuren.

A. Juckenack und *R. Pasternack*[3]) haben ein Verfahren ausgearbeitet, welches folgendermaßen ausgeführt wird:

10 *g* Fett werden nach *Leffmann* und *Beam* mit 40 *g* einer 5%igen Glyzerin-Natronlauge in einem etwa 300 *cm*³ fassenden Kochkolben

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. S. 147 (1907).
[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. S. 389 (1912).
[3]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. S. 193 (1904).

aus Jenaer Glas über freier Flamme vollständig verseift (siehe S. 206). Die flüssige Seife wird in einen Destillationskolben für Stickstoffbestimmungen gebracht. Nach dem Erkalten fügt man 80 *cm*³ verdünnte Schwefelsäure (1 : 10) hinzu und destilliert die flüchtigen Fettsäuren mit einem starken Wasserdampfstrome ab. Gleichzeitig wird der Kolben mit einer kleinen Flamme erwärmt, so daß die Flüssigkeitsmenge während der ganzen Destillation annähernd gleich bleibt. Es werden etwa 300 *cm*³ Destillat aufgefangen. Die im Kolben zurückgebliebene Flüssigkeit verdünnt man mit viel heißem Wasser und läßt erkalten, hebt die erstarrten Fettsäuren ab, wäscht sie wiederholt mit Wasser und löst in Äther auf. Die ätherische Lösung wird noch drei- bis viermal mit Wasser ausgeschüttelt, mit Chlorkalzium getrocknet und von Äther befreit. Der letzte Ätherrest wird bei gelinder Wärme im Wassertrockenschrank verjagt.

Annähernd 2 *g* der Fettsäuren werden in einem *Erlenmeyer*schen Kölbchen genau abgewogen und bei gelinder Wärme in Alkohol gelöst, der vorher gegen Phenolphtaleïn mit Kalilauge genau neutralisiert worden ist. Die gelösten Fettsäuren werden darauf mit Normal-Kalilauge titriert. Das mittlere Molekulargewicht (M) der nichtflüchtigen, in Wasser unlöslichen Fettsäuren wird nach der Formel

$$M = \frac{P \cdot 1000}{K}$$

berechnet, worin bedeutet: M = das mittlere Molekulargewicht der Fettsäuren,
P = Gewicht der angewendeten Fettsäuren,
K = verbrauchte Kubikzentimeter der Normal-Kalilauge.

Die Verseifung der Fette kann auch mit alkoholischer Kalilauge erfolgen, wegen der Laktone genügt aber in der Regel nicht die Verseifungszeit für die *Reichert-Meissl*sche Zahl, sondern es muß etwa $^1/_2$ bis 1 Stunde verseift werden. Da bei diesem Verfahren auch der Alkohol erst wieder entfernt werden muß, so führt die Verseifung mit Glyzerin-Natronlauge schneller zum Ziel.

Das mittlere Molekulargewicht der nichtflüchtigen Fettsäuren beträgt für Butter 251·8—269·1, für Kokosfett 208·5—210·5 und für Schweinefett 271·5—273·5.

18. Bestimmung des mittleren Molekulargewichtes der flüchtigen, wasserlöslichen Fettsäuren.

Ein beliebiger Teil (je nach dem mutmaßlichen Gehalte des Destillates an flüchtigen Fettsäuren etwa 150—300 *cm*³) des filtrierten Destillates von 17 wird unter Zusatz von 2 bis 3 Tropfen Phenolphtaleïnlösung mit $^1/_{10}$-Normalkalilauge genau neutralisiert, in einer flachen, gewogenen Platinschale (Weinschale) zur Trockne verdampft und schließlich im Wassertrockenschrank (Weintrockenschrank) bis zum konstanten Gewicht getrocknet. Aus dem so ermittelten Gewichte der fettsauren Salze wird dann das mittlere

Molekulargewicht der gelösten Fettsäuren mit Hilfe der verbrauchten Alkalimenge berechnet.

Hierbei ist zu berücksichtigen, daß die zur Titration verwendete $^1/_{10}$-Normalkalilauge in der Regel neben Kaliumhydroxyd noch geringe Mengen Natriumhydroxyd oder Calciumhydroxyd enthält. Infolgedessen ist noch der wirkliche Alkaligehalt der Lauge festzustellen und der Berechnung zugrunde zu legen. Für die Berechnung kommt folgende Erwägung in Betracht: Fettsäure + Alkali gibt fettsaures Salz + Wasser. Infolgedessen muß zur Ermittelung des Molekulargewichts der hydrathaltigen Fettsäure aus dem wasserfreien fettsauren Salz die dem Alkalioxyd entsprechende Hydratwassermenge berücksichtigt werden.

Um zunächst den wirklichen Alkaligehalt der $^1/_{10}$-Kalilauge zu ermitteln, werden 50 *cm*³ der betreffenden Lauge (von der zweckmäßig ein Vorrat gehalten wird) nach Zusatz von 2 Tropfen Phenolphtaleïn genau mit $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure neutralisiert, eingedampft, getrocknet und gewogen. Die weitere Berechnung des Molekulargewichtes erfolgt nach der Formel:

$$M = \frac{(a - k \,.\, b)\, 10 \times 1000}{b},$$

worin bedeutet:

M = mittleres Molekulargewicht der flüchtigen löslichen Fettsäuren,

a = gefundene Gramme des fettsauren Salzes,

b = Zahl der verbrauchten *cm*³ $^1/_{10}$-Normalalkali,

k = das für je 1 *cm*³ $^1/_{10}$-Normalalkali von dem fettsauren Salz in Abzug zu bringende Gewicht, welches aus dem wirklich vorhandenen Alkali weniger dem Hydratwasser (0·0009 *g* für 1 *cm*³ $^1/_{10}$-Normalalkali) besteht.

Das Molekulargewicht betrug für Butter 95·0—99, für Kokosfett 130—145.

2. Margarine.

Margarine sind diejenigen der Milchbutter oder dem Butterschmalz ähnlichen Zubereitungen, deren Fettgehalt nicht ausschließlich der Milch entstammt. Sie besteht aus einem Gemenge von tierischen und pflanzlichen Fetten und Ölen, welche zusammengeschmolzen und mit Hilfe von Milch zu einer butterähnlichen Masse verarbeitet worden sind. Die Fette bestehen aus Oleomargarin, (dem niedrig schmelzenden Anteil des Rindstalgs, Schweineschmalz, Kokosnußfett; die Öle aus Baumwollsamenöl, Sesamöl, Erdnußöl, Palmöl usw.

Da wegen der verschiedenartigen Zusammensetzung auch die chemischen Konstanten der Margarine sehr verschieden sind, so können auch keine Grenzwerte angegeben werden. Von der Butter unterscheidet sie sich hauptsächlich durch die niedrige *Reichert-Meiss*lsche Zahl und den vorgeschriebenen Gehalt an Sesamöl, welchen jede Margarine als latente Färbung enthalten muß.

Die Untersuchung der Margarine erfolgt nach denselben Grundsätzen, wie die der Butter, außerdem ist noch folgende Prüfung auszuführen:

Schätzung des Sesamölgehaltes der Margarine.

0·5 cm^3 des geschmolzenen, klar filtrierten Margarinefettes werden mit 9·5 cm^3 Baumwollsamenöl, das, nach dem Seite 196 beschriebenen Verfahren geprüft, mit Furfurol und Salzsäure keine Rotfärbung gibt, vermischt. Man prüft die Mischung nach dem ebendort angegebenen Verfahren auf Sesamöl. Hat die Margarine den vorgeschriebenen Gehalt an Sesamöl von der vorgeschriebenen Beschaffenheit, so tritt die Sesamölreaktion noch deutlich ein.

3. Schweinefett.

Das Schweinefett ist neben der Butter das geschätzteste Speisefett. Es besteht, wie alle tierischen Fette, vorzugsweise aus Palmitin, Stearin und Olein.

Das einheimische Schweinefett wird gewöhnlich aus dem Eingeweidefett gewonnen, und zwar vorwiegend aus dem Nierenfett und Darmfett (Gekröse), seltener aus dem Rückenfett (Speck) oder Fett anderer Körperteile des Schweines.

Bei der Untersuchung des Schweineschmalzes sind die refraktometrische Prüfung, die Bestimmung der Jodzahl und die Prüfungen auf Pflanzenöle stets auszuführen, die übrigen Verfahren nur unter besonderen Umständen.

1. Bestimmung des Wassers.

Die Bestimmung des Wassers ist nur dann erforderlich, wenn beim Schmelzen der Schmalzprobe sich dessen Gegenwart zu erkennen gibt. Sie erfolgt dann in gleicher Weise wie bei der Butter.

Um geringe Mengen Wasser in Schweineschmalz nachzuweisen, wird ferner noch folgende Methode angewendet:

Man bringt in ein starkwandiges Probierröhrchen aus farblosem Glase von 9 cm Länge und 18 cm^3 Rauminhalt etwa 10 g der vorher gut durchgemischten Schmalzprobe und verschließt es mit einem durchlochten Gummipfropfen, in dessen Öffnung ein bis 100° zeigendes Thermometer so weit eingeschoben ist, daß sich der Quecksilberbehälter in der Mitte der Fettschicht befindet. Darauf wird das Probierröhrchen mit einer Flamme allmählich erwärmt, bis das Fett die Temperatur von 70° angenommen hat. Ist das Schweineschmalz bei dieser Temperatur völlig klar, dann enthält es weniger als 0·3% Wasser, und es bedarf keiner weiteren Untersuchung. Ist das Fett dagegen bei 70° trübe geschmolzen oder sind Wassertröpfchen darin sichtbar, dann wird es über einer Flamme allmählich auf 95° erwärmt und bei dieser Temperatur zwei Minuten lang kräftig durchgeschüttelt. In der Mehrzahl der Fälle wird es dann zu einer völlig klaren Flüssigkeit geschmolzen sein. Darauf läßt man das Fett unter mäßigem Schütteln an der Luft abkühlen und stellt diejenige Temperatur fest, bei der das Schmalz sich deutlich trübt. Das Erwärmen auf 95°, das Schütteln und Abkühlenlassen wird zwei- bis dreimal oder so oft wiederholt, bis sich die Trübungstemperatur des Fettes nicht mehr erhöht.

Beträgt die Trübungstemperatur mehr als 75°, dann enthält das Schmalz mehr als 0·3% Wasser.

Ist das Schweineschmalz bei 95° nicht zu einer klaren Flüssigkeit geschmolzen, dann enthält es entweder mehr als 0·45% Wasser oder andere unlösliche Stoffe, wie Gewebsteile oder chemische Stoffe (Fullererde).

2. Bestimmung der Mineralbestandteile.

10 *g* Schmalz werden geschmolzen und durch ein getrocknetes dichtes Filter von bekanntem geringen Aschengehalte filtriert. Man entfernt die größte Menge des Fettes von dem Filter durch Waschen mit entwässertem Äther, verascht das Filter und wägt die Asche.

3. Bestimmung des Fettes.

Man erhält den Fettgehalt des Schmalzes, indem man den Gehalt an Wasser und Mineralbestandteilen von 100 abzieht.

4. Bestimmung des Schmelz- und Erstarrungspunktes.

5. Bestimmung des Brechungsvermögens.

6. Bestimmung der freien Fettsäuren (des Säuregrades).

7. Bestimmung der flüchtigen, in Wasser löslichen Fettsäuren (der *Reichert-Meissl*schen Zahl).

8. Bestimmung der Verseifungszahl (der *Köttstorfer*schen Zahl).

9. Bestimmung der unlöslichen Fettsäuren (der *Hehner*schen Zahl).

10. Bestimmung der Jodzahl nach *v. Hübl*.

11. Bestimmung der unverseifbaren Bestandteile (Phytosterin).

12. Nachweis von Sesamöl.

13. Konservierungsmittel.

14. Baumwollsamenöl.

15. Pflanzenöle.

16. Farbstoffe.

Diese Bestimmungen erfolgen in derselben Weise, wie Seite 184 bis 205 angegeben ist, mit folgenden Abweichungen:

1. Will man sich bei der Bestimmung des Brechungsvermögens eines besonders eingerichteten Thermometers bedienen, so muß es ein solches sein, das auch für Schweineschmalz bestimmt ist und eine dementsprechende Einteilung besitzt.

2. Bei dem Nachweise des Sesamöls ist auf Teerfarbstoffe keine Rücksicht zu nehmen.

17. Nachweis von Erdnußöl[1]) nach *A. Renard* mit Änderungen von *de Negri* und *Fabris*.

Der Nachweis des Erdnußöles in anderen Fetten beruht auf der Isolierung der im Erdnußöl in verhältnismäßig großer Menge vorhandenen

[1]) *A. Renard*, Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. **12**. S. 231 (1873). — Ferner *J. Herz*, Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. **6**. S. 604 (1886). — *H. Kreis*, Chem. Ztg. Bd. **19**. S. 451 (1895). — *De Negri* und *Fabris*, Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. **33**. S. 553 (1894).

Arachinsäure, welche durch ihren hohen Schmelzpunkt (75° C) charakterisiert ist. Das fragliche Fett wird verseift, aus der Seife werden die Fettsäuren abgeschieden und durch fraktionierte Kristallisation aus heißem Alkohol wird die Arachinsäure, welche sich zuerst abscheidet, isoliert, und auf Schmelzpunkt geprüft (siehe S. 216).

18. Nachweis von Talg.

Er wird nach *Polenske* [1]) durch Bestimmung der sogenannten Differenzzahl erbracht, welche den Unterschied in Graden zwischen dem Schmelzpunkt und Erstarrungspunkt angibt. Diese Differenzzahl beträgt für Schweinefett wenigstens 18·5, für Rindertalg 12—15. Sinkt die Differenzzahl unter 18·5, so liegt kein reines Schweinefett vor. Der Nachweis gelingt im allgemeinen aber nur dann mit Sicherheit, wenn wenigstens 20% Rindertalg vorhanden ist.

19. Nachweis von Kokosfett.

Dieser kann ebenfalls durch die *Polenske*-Zahl erbracht werden. *W. Arnold* [2]) hat eine quantitative Bestimmung von Kokosfetten in Speisefetten ausgearbeitet. Die Berechnung erfolgt entweder nach der Formel:

$$\text{Kokosfett} = \frac{k - 197}{0{\cdot}62},$$

worin k die *Köttstorfer*sche Zahl bedeutet, oder sie erfolgt nach der folgenden Tabelle, welche besonders für kleinere Kokosfettzusätze empfohlen wird, da bei Mischungen, deren Verseifungszahl 205 nicht übersteigt, die Berechnung nach der vorherigen Formel nicht mehr genau ist.

Tabelle zur annähernden Bestimmung des Kokosfettgehaltes in Rinds-, Schweinefett, Margarine und Kunstspeisefetten.

Kokosfettgehalt	*Polenske*-Zahl	*Reichert-Meissl*-Zahl	Kokosfettgehalt	*Polenske*-Zahl	*Reichert-Meissl*-Zahl
3	0·7	1·00	30	3·65	4·85
4	0·85	1·30	35	4·25	5·35
5	0·90	1·40	40	5·05	5·90
6	0·95	1·65	45	5·90	6·25
7	1·05	1·90	50	6·60	6·75
8	1·15	2·10	55	7·30	6·95
9	1·20	2·25	60	8·00	7·35
10	1·30	2·40	65	9·00	7·40
12	1·40	2·75	70	10·00	7·75
14	1·65	3·10	75	11·00	7·95
16	1·90	3·30	80	11·80	8·25
18	2·15	3·60	85	12·70	8·65
20	2·40	3·90	90	13·80	8·70
25	3·00	4·50	95	14·40	9·00

[1]) Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 26. S. 444.
[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 21. S. 587 (1911).

4. Die übrigen Speisefette.

Hierher gehören Talg, Kokosfett, Gänseschmalz, Oleomargarine und einige andere Fette, die aber selten benutzt werden.

Ihre Untersuchung erfolgt nach den gleichen Verfahren, die unter dem Abschnitt „Allgemeine Untersuchungsmethoden" (Seite 184) angegeben sind. Auch die für Schweineschmalz und Butterfett geltenden Verfahren können angewendet werden.

Über Kokosfett siehe auch Seite 205.

5. Speiseöle.

Für den Verbrauch kommen in Betracht: Leinöl, Mohnöl, Olivenöl, Rüböl, Sesamöl, Arachisöl; einige andere werden neuerdings auch zur Herstellung der Kunstspeisefette gebraucht, für sich allein aber nicht.

Auch für die Öle gelten die Vorschriften, welche in dem Abschnitt „Allgemeine Untersuchungsmethoden" (Seite 184) angegeben worden sind. Auch die in diesem Abschnitt unter 5 angegebenen Verfahren gelten sinngemäß für alle übrigen Öle, und dienen als Beispiel für derartige Untersuchungen.

1. Probeentnahme und Vorbereitung der Öle zur Untersuchung.

Aus dem gut durchmischten Ölvorrate sind mindestens 100 *g* Öl zu entnehmen; die Ölproben sind in reinen, trockenen Glasflaschen, die mit Kork oder eingeriebenen Glasstöpseln verschließbar sind, aufzubewahren und zu versenden. Falls die Öle ungelöste Bestandteile enthalten, sind sie zu erwärmen und, wenn sie dann nicht vollkommen klar sind, durch ein trockenes Filter zu filtrieren.

2. Bestimmungen des Schmelz- und Erstarrungspunktes der Fettsäuren.

Bei flüssigen Fetten bestimmt man vielfach den Schmelz- und Erstarrungspunkt der aus ihnen gewonnenen Fettsäuren. Zur Gewinnung der Fettsäuren aus den Ölen bedient man sich des S. 197 beschriebenen Verfahrens; falls die Bestimmung der unlöslichen Fettsäuren nach *Hehner* ausgeführt wurde, können die gewogenen Fettsäuren zur Bestimmung des Schmelz- und Erstarrungspunktes benutzt werden. Die Ausführung der letzteren erfolgt in derselben Weise wie bei den festen Fetten (Seite 184).

3. Bestimmung des Brechungsvermögens.

Bei der Bestimmung der Refraktometerzahl muß man sich des gewöhnlichen Thermometers bedienen. Die Ablesung ist hier häufig erschwert und ungenau, da infolge des verschiedenen Zerstreuungsvermögens der Öle und des dadurch hervorgerufenen Auftretens breiter farbiger Bänder der beleuchtete und der unbeleuchtete Teil des Gesichtsfeldes nicht durch eine scharfe Linie voneinander getrennt sind. In diesem Falle beleuchtet man die Prismen nicht mit dem gemischten Tages- oder Lampenlichte, sondern mit einheitlichem Lichte, z. B. einer Natriumflamme.

Als Normaltemperatur für die Bestimmung des Brechungsvermögens der Öle gilt die Temperatur von 25°. Man stellt bei der Untersuchung der Öle den Thermoregulator des Heizkessels so ein, daß das Thermometer des Refraktometers möglichst genau eine Temperatur von 25° anzeigt. Die Umrechnung der bei abweichenden Temperaturen abgelesenen Refraktometerzahlen auf die Normaltemperatur von 25° erfolgt nach denselben Grundsätzen wie bei dem Butterfette.

4. Bestimmung der Jodzahl nach *v. Hübl.*

Von nicht trocknenden Ölen verwendet man 0·3—0·4 *g* und bemißt die Zeitdauer der Einwirkung auf 2 Stunden. Von trocknenden Ölen verwendet man 0·15—0·18 *g* und läßt die Jodlösung 18 Stunden darauf einwirken. In letzterem Falle ist sowohl zu Beginn als auch am Ende der Versuchsreihe ein blinder Versuch auszuführen.

Die Bestimmung erfolgt nach Seite 194.

5. Anleitung[1]) zur chemischen Untersuchung von Baumöl.

Reines Baumöl ist eine farblose bis goldgelbe, bisweilen auch durch Chlorophyll grün gefärbte Flüssigkeit. Bei etwa 10° C beginnt es sich zu trüben und erstarrt bei 0° zu einer salbenartigen Masse. Es zeigt einen eigentümlichen schwachen Geruch und Geschmack.

a) Bestimmung des spezifischen Gewichtes.

Die Bestimmung des spezifischen Gewichtes geschieht bei 15° C mit Hilfe einer *Westphal*schen Wage. Das spezifische Gewicht des Baumöls liegt zwischen 0·913 und 0·919.

b) Bestimmung des Brechungsvermögens.

Die Bestimmung des Brechungsvermögens erfolgt mit dem Butterrefraktometer der Firma *Karl Zeiß*, optische Werkstätte in Jena, bei 25° C. Baumöl zeigt bei 25° C eine Refraktionszahl von 62—63.

c) Bestimmung der Jodzahl nach *v. Hübl.*

Die Bestimmung erfolgt nach Seite 194.

Bei der Berechnung der Jodzahl ist der für den blinden Versuch nötige Verbrauch in Abzug zu bringen. Man berechnet aus den Versuchsergebnissen, wieviel Gramm Jod von 100 *g* Baumöl aufgenommen worden sind, und erhält so die *Hübl*sche Jodzahl des Baumöls.

Die Jodzahl reinen Baumöls liegt zwischen 79 und 88.

d) Elaidinprobe.

10 *g* Baumöl werden in ein Probierröhrchen gebracht und 5 cm^3 Salpetersäure von der Dichte 1·410 hinzugesetzt. Nachdem man 2 Minuten lang geschüttelt hat, wird 1 *g* Quecksilber hinzugefügt und dieses durch starkes Schütteln gelöst. Sodann läßt man die Mischung etwa ½ Stunde stehen. Reines Baumöl gibt dann eine farblose oder schwach gelbgefärbte, feste Masse.

e) Prüfung auf Baumwollsamenöl.

5 cm^3 Baumöl werden mit der gleichen Raummenge Amylalkohol und 5 cm^3 einer 1%igen Lösung von Schwefel in Schwefelkohlenstoff in einem

[1]) Zum Teil nach amtlichem Verfahren.

weiten, mit Korkverschluß und weitem Steigrohre versehenen Reagenzglas etwa 1/4 Stunde lang im siedenden Wasserbad erhitzt. Tritt keine Färbung ein, so setzt man nochmals 5 cm^3 der Lösung des Schwefels hinzu und erhitzt von neuem 1/4 Stunde lang. Eine deutliche Rotfärbung der Flüssigkeit ist durch die Gegenwart von Baumwollsamenöl bedingt.

f) Prüfung auf Sesamöl.

5 cm^3 Baumöl werden mit 0·1 cm^3 einer alkoholischen Furfurollösung (1 Raumteil farbloses Furfurol in 100 Raumteilen absolutem Alkohol) gelöst und mit 10 cm^3 Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1·19 mindestens 1/2 Minute lang kräftig geschüttelt. Wenn die am Boden sich abscheidende Salzsäure eine nicht alsbald verschwindende Rotfärbung zeigt, so ist die Gegenwart von Sesamöl anzunehmen.

g) Prüfung auf Erdnußöl.

Zur Vorprüfung auf Erdnußöl wird 1 cm^3 Öl mit 5 cm^3 alkoholischer Kalilauge (20 *g* KOH in 100 cm^3 Alkohol von 70 Vol.-%) verseift, mit 1·5 cm^3 Eisessig (1 : 1) versetzt und in 50 cm^3 Alkohol von 70 Vol.-% gelöst. Wird diese Lösung auf 16° abgekühlt und entsteht keine deutliche Trübung, so sind nennenswerte Mengen von Erdnußöl nicht vorhanden.

Die quantitative Bestimmung von Erdnußöl in anderen Ölen geschieht nach *A. Renard*[1]) in der Abänderung von *de Negri* und *G. Fabris*.[2]) Es werden 20 *g* Öl mit 40 cm^3 vorstehender Kalilauge verseift und der Alkohol möglichst verdunstet. Die Seife wird in Wasser gelöst und durch Zusatz von überschüssiger Salzsäure heiß zersetzt. Die Fettsäuren werden in einen Schütteltrichter gebracht und mehrfach mit heißem Wasser ausgeschüttelt. Dann werden sie in 300 cm^3 Äther gelöst und in ein Becherglas abgelassen. Hierzu setzt man allmählich unter Umrühren eine Lösung von 15 *g* Bleiazetat in 150 cm^3 Alkohol von 90 Vol.-%, wodurch ein Niederschlag entsteht, der fast nur aus Bleisalzen der festen Fettsäuren besteht, während ölsaures Blei gelöst bleibt. Der Niederschlag wird abfiltriert, mit Äther nachgewaschen und durch Kochen mit 250 cm^3 5%iger Salzsäure in einem Becherglase zerlegt. Die abgeschiedenen Fettsäuren werden mit heißem Wasser mehrfach ausgewaschen, bis das Waschwasser vollständig klar bleibt und alles Chlorblei entfernt ist. Dann löst man die Fettsäuren in Äther, filtriert und destilliert den Äther ab. Der Rückstand muß, wenn Erdnußöl zugegen ist, die charakteristische Arachinsäure enthalten; löst man sie in 90 vol.-%igem Alkohol auf, so scheidet sie sich beim Abkühlen auf 15° annähernd quantitativ wieder aus.

Zur quantitativen Bestimmung filtriert man den Niederschlag durch ein gehärtetes Filter, trocknet und wiegt. Das Gewicht mit 21 vervielfacht, entspricht ungefähr dem Gehalt an Arachisöl. Arachinsäure besitzt einen Schmelzpunkt von 74—75°, wird dieser nicht erreicht, so muß noch 2—3mal aus 90%igem Alkohol umkristallisiert werden.

[1]) Zeitschr. f. anal. Chemie. Bd. **12**. S. 231 (1873).

[2]) Zeitschr. f. anal. Chemie. Bd. **33**. S. 559 (1894).

Als orientierende Prüfungen auf einige andere Pflanzenöle kommen noch in Betracht:

Mohnöl. Werden 10 *g* Mohnöl mit 10 *g* Salpeterschwefelsäure (1 : 1) gemischt, so färbt sich Mohnöl ziegelrot; Sesamöl bei gleicher Behandlung grasgrün.

Baumwollsaatöl: Werden 5 cm^3 Öl mit 5 cm^3 Salpetersäure (s = 1·375) geschüttelt, so färbt sich die Mischung innerhalb 24 Stunden kaffeebraun.

Palmöl: Färbt sich mit konzentrischer Schwefelsäure blaugrün, mit Chlorzink dunkelgrasgrün.

Getreide, Hülsenfrüchte, Müllereierzeugnisse, Teigwaren.

1. Getreide und Hülsenfrüchte.

Mittlere prozentische Zusammensetzung der Getreide und Hülsenfrüchte nach *J. König* (l. c.).

	Zahl der Analysen	Wasser	Stickstoffsubstanz	Fett	Stickstofffreie Extraktstoffe	Rohfaser	Asche
		Prozente					
Winterweizen	508	13·37	11·64	1·72	69·07	2·34	1·86
Sommerweizen	91	13·37	13·59	2·00	67·29	1·81	1·94
Winterroggen	119	13·37	11·17	1·63	69·12	2·62	2·09
Sommerroggen	11	13·37	12·90	1·98	68·11	1·71	1·93
Gerste	98	12·95	10·01	1·87	67·88	4·23	3·06
Hafer	109	12·81	10·17	4·55	58·76	10·43	3·28
Buchweizen	17	13·27	11·41	2·68	58·79	11·44	2·38
Mais	19	13·32	9·42	4·13	69·40	2·34	1·39
Reis (enthülst)	16	12·99	7·92	0·78	76·8	0·58	0·93
Erbsen	56	13·80	23·35	1·88	52·65	5·57	2·75
Puff-Bohnen	50	14·00	25·68	1·68	47·29	8·25	3·10
Gewöhnliche Bohnen	20	11·24	23·66	1·96	55·6	3·88	3·66
Linsen	14	12·33	25·94	1·93	52·84	3·92	3·04

Die Untersuchung auf Zusammensetzung erfolgt nach den gleichen Verfahren, welche für Mehl angegeben sind. Weitere Prüfungen erstrecken sich nur auf einige besondere Behandlungsweisen, welche nicht erlaubt sind.

1. Das Talkumieren. Vielfach werden Reis und Graupen mit Talkum gerollt, um ihnen ein weißeres und glatteres Aussehen zu geben. Der Nachweis geschieht, indem man die Substanz mit 20—50 *g* Chloroform kräftig durchschüttelt, die trübe Flüssigkeit schnell in eine Platinschale bringt, das Chloroform verdunstet und den Rückstand glüht und wiegt. Genauer ist das Ergebnis, wenn man den Rückstand außerdem mit Salzsäure behandelt, um die Aschenteile zu entfernen.

2. Farbstoffe. Sie werden beim Reis in ähnlicher Weise nachgewiesen, indem man die Chloroformausschüttelung mikroskopisch untersucht. Verwendet werden für Reis nur blaue Farbstoffe (Berlinerblau, Indigo, Ultramarin). Berlinerblau wird durch Kalilauge, Ultramarin durch verdünnte Salzsäure und Indigo durch verdünnte Salpetersäure erkannt. Hülsenfrüchte, namentlich Erbsen, werden ebenfalls künstlich gefärbt. Zum Nachweis werden sie mit 50%igem Alkohol ausgezogen, das Filtrat wird mit Weinsäure angesäuert und mit Wolle eingedampft. Bei Gegenwart von Farbstoffen wird die Wolle echt gefärbt; die Art des Farbstoffes ist dann weiter festzustellen.

3. Prüfung auf Schwefelung. Um eine hellere Färbung zu erzielen, werden manche Müllereierzeugnisse, namentlich Graupen, geschwefelt. Die schweflige Säure wird, wie beim Kapitel Fleisch, S. 161, beschrieben worden ist, nachgewiesen.

4. Nachweis eines Zuckerüberzuges. Namentlich Reis, seltener Graupen werden in verdünnter Zuckerlösung gewälzt; um diese nachzuweisen, werden sie mit Wasser gewaschen, und die Lösung wird mit *Fehling*scher Lösung nach der Inversion auf Zucker geprüft.

2. Mehl.

Unter Mehl im engeren Sinne versteht man die durch technischen Betrieb hergestellten Mahlerzeugnisse der Getreidearten. Von diesen kommen hauptsächlich Roggen- und Weizenmehl in Betracht.

1. Bestimmung des Wassergehaltes.

(Siehe „Allgemeine Untersuchungsmethoden“, S. 102.)

2. Bestimmung der Gesamtasche und des in Salzsäure unlöslichen Teiles der Asche.

(Siehe „Allgemeine Untersuchungsmethoden“, S. 152.)

Bei schwer veraschbaren Mehlen kann die ausgelaugte Kohle mit salpetersaurem Ammon verbrannt werden. Ist die Ermittlung des in Salzsäure unlöslichen Teiles der Asche (Sand etc.) erforderlich, so wird die Asche mit verdünnter Salzsäure (10%ig) in der Wärme behandelt. Der Rückstand wird abfiltriert, ausgewaschen, geglüht und gewogen. Die Differenz zwischen der Gesamtasche und dem Rückstande ist die Menge der in Salzsäure löslichen Bestandteile.

Zur vorläufigen Orientierung dient auch die sogenannte Chloroformprobe, wobei $2\,g$ Mehl mit $30\,cm^3$ Chloroform geschüttelt werden; die Mineralstoffe setzen sich nach kurzer Zeit am Boden ab, während die Hauptmenge des Mehles sich an der Oberfläche sammelt.

3. Bestimmung des Säuregehaltes.

Ein genaues Verfahren zur Bestimmung der verschiedenen Säuren im Mehl gibt es nicht.[1])

[1]) Nach *Hilger* und *Günther* (Mitteilungen a. d. pharm. Institut Erlangen, 1889, H. 2, S. 13) werden $10\,g$ Mehl mit der gleichen Menge reinen Sandes innig gemischt,

Mittlere prozentische Zusammensetzung der Mehle nach *J. König* (l. c.).

	Zahl der Analysen	Wasser	Stickstoffsubstanz	Fett
		Prozente		
Weizenmehl, fein .	26	8·92—15·54	8·25—13·32	0·33—1·4
„ grob .	35	9·38—15·4	6·83—15·25	1·04—3·24
Roggenmehl . . .	35	8·90—15·02	4·20—16·01	0·38—4·31
Gerstenmehl . .	11	14·06	12·29	2·44
Hafermehl . . .	15	9·09	13·87	6·18
Maismehl . . .	32	12·99	9·62	3·14
Buchweizenmehl .	18	13·84	8·28	1·49

	Zahl der Analysen	Stickstofffreie Extraktstoffe	Rohfaser	Asche
		Prozente		
Weizenmehl, fein .	26	63·11—77·4	0·07—0·84	0·30—0·68
„ grob .	35	68·45—73·72	0·45—1·28	0·40—1·85
Roggenmehl . . .	35	70·01—84·01	0—3·95	0·43—2·86
Gerstenmehl . .	11	68·47	0·89	1·85
Hafermehl . . .	15	67·06	1·71	2·07
Maismehl . . .	32	71·70	1·41	1·14
Buchweizenmehl .	18	74·58	0·70	1·11

4. Bestimmung der Proteïnstoffe.

Die Bestimmung der Proteïnstoffe erfolgt nach *Kjeldahl* (Allgemeine Verfahren, S. 104). Der gefundene Stickstoff multipliziert mit 6·25 ergibt den Gehalt an Gesamtprotein. Ist eine getrennte Bestimmung der löslichen Eiweißstoffe und Amide erforderlich, so wird sie nach *Stutzer* (vgl. S. 106) ausgeführt.

5. Bestimmung der Kohlenhydrate.

Die Bestimmung der Kohlenhydrate[1] zerfällt in die Ermittlung der Gesamtmenge der Kohlenhydrate (Stärke, Zucker, Dextrin) und der Stärke allein.

a) Bestimmung der Gesamtmenge der Kohlenhydrate.

3 *g* Mehl werden mit 100 cm^3 Wasser gut verrührt und im Dampftopf 3—4 Stunden bei 3 Atmosphären Druck erhitzt. Siehe Allgemeine

die Mischung wird in eine Papierpatrone gebracht und 12 Stunden lang mit absolutem Alkohol ausgezogen. In einem aliquoten Teile des auf 100 cm^3 gebrachten Auszuges wird die Säure unter Benutzung von Lackmuspapier bestimmt und dabei der Säuregrad des ursprünglich verwendeten Alkohols in Abzug gebracht. Im übrigen sei auf die Arbeiten von *Thal* (Pharm. Zeitschr. Rußl. 1894, S. 641) und *Balland* (Journ. Pharm. et Chim. 1893, Ve sér., T. 28, p. 159) verwiesen.

[1]) *J. König,* Chemie der Genußmittel. III. Aufl. Bd. 2. Bestimmung von Zucker und Stärke im Mehl. S. 547.

Verfahren, S. 146. Bei Anwendung von 3 *g* Mehl werden 25 *cm*³ der erhaltenen Zuckerlösung zur Fällung mit *Fehling*scher Lösung benutzt. Genauer erfolgt die Bestimmung der Gesamtmenge der Kohlenhydrate nach *Märker* und *Morgan* (S. 147).

b) Bestimmung der Stärke.

Um die Stärke ohne Dextrin und Zucker zu bestimmen, wird am einfachsten die Differenzmethode gewählt. Die Mehle werden mit Wasser kalt ausgezogen, indem man 5—10 *g* Mehl mit 1 *l* destillierten Wassers schüttelt; man läßt absetzen, filtriert durch ein dichtes Faltenfilter und bestimmt in einem abgemessenen Teile des klaren Filtrats nach genügender Konzentration und nach Inversion mit Salzsäure vom spez. Gew. 1·125 Zucker und Dextrin wie bei *a)*. Durch Subtraktion des gefundenen Zuckers und Dextrins von der Gesamtmenge der Kohlenhydrate findet man durch entsprechende Umrechnung die Menge der Stärke.

Verfahren nach *Baumert.*

(Siehe „Allgemeine Untersuchungsmethoden", S. 149.)

Verfahren nach *Lintner.*

Das Verfahren besteht darin, daß die Stärke mit Hilfe von konzentrierter Salzsäure gelöst wird, sodaß man aus der optischen Drehung die Menge bestimmen kann. Dies Verfahren gibt nur annähernde Ergebnisse.

2·5 *g* Substanz werden mit 10 *cm*³ Wasser zu einem Brei verrieben mit 15—20 *cm*³ konzentrierter Salzsäure 1·19 gemischt und $^1/_2$ Stunde stehen gelassen. Dann spült man die Masse mit Salzsäure vom spez. Gew. 1·125 in ein 100 *cm*³-Kölbchen, setzt 5 *cm*³ 4%ige Phosphorwolframlösung zu, füllt mit verdünnter Salzsäure auf 100 auf, filtriert und polarisiert. Die spezifische Drehung beträgt für Gerstenstärke 200·3, für Roggenstärke 201·6, für Weizenstärke 202·4, für Maisstärke 201·5, für Reisstärke 202·5 und für Kartoffelstärke 204·3. Annähernd beträgt sie also 202.

6. Bestimmung des Zuckers.

10 *g* Mehl werden mit kaltem Wasser bis zur völligen Zerkleinerung der Klümpchen verrührt und mit Wasser in einen Literkolben gespült. Es wird wiederholt geschüttelt, schließlich bis zur Marke aufgefüllt und durch ein dichtes Faltenfilter filtriert. In 25 *cm*³ des klaren Filtrats wird der reduzierende Zucker nach *E. Wein* unter Benutzung der Maltosetabelle bestimmt (siehe S. 130). Findet man wesentliche Mengen von Zucker, was bei Mehl von ausgewachsenem Getreide vorkommen kann, so zieht man besser mit Alkohol aus. (Siehe unter Kindermehl, S. 225.)

7. Bestimmung des Fettes.

Die Ermittlung des Fettgehaltes erfolgt in der üblichen Weise, indem man 5—10 *g* Mehl im *Soxhlet*schen Extraktionsapparate mit wasserfreiem Äther auszieht.

8. Bestimmung der Rohfaser (Holzfaser).

Die Rohfaser wird nach der *Weender*-Methode bestimmt. Über die Ausführung siehe „Allgemeine Untersuchungsmethoden", S. 150.

Bei Mehlen werden zweckmäßig 5 *g* der Substanz, nötigenfalls nach dem Entfetten, in Arbeit genommen.

Wenn eine Zentrifuge zur Verfügung steht, kann das Verfahren geändert werden, indem nur mit 50 cm^3 der Säure- und Kalilösung gearbeitet wird.

Bei Feinmehlen wird nach folgendem abgeänderten Verfahren[1] gearbeitet.

Man verflüssigt in 10—20 *g* Mehl die Stärke durch Malzaufguß bei 70° oder durch mehrstündiges Kochen mit verdünnter Salzsäure, verdünnt in hohen Zylindern stark mit Wasser und läßt absetzen. Hierauf hebert man die überstehende klare Flüssigkeit ab, spült den Rückstand in eine Kochflasche zurück und verfährt mit ihm nach dem *Weender*-Verfahren.

Über die Frage, ob die Rohfaserbestimmung nach der ursprünglichen *Weender*-Methode oder nach der für Feinmehle vorgenommen werden soll, entscheidet das Ergebnis der Siebprobe (Nr. 17). Bleiben auf dem 0·2 *mm*-Sieb oder auf Müllergaze Nr. 8 mehr als 2% Mehl zurück, so wird nach dem ursprünglichen Verfahren, bleiben weniger als 2% zurück, so wird nach dem abgeänderten gearbeitet.

9. Nachweis von Mutterkorn und Unkrautsamen.

Von chemischen Methoden wird die *Hoffmann*sche Probe, abgeändert durch *Hilger*[2], angewendet: 10 *g* Mehl werden mit 20 cm^3 Äther und 10 Tropfen verdünnter Schwefelsäure (1:5) in einem Glaskölbchen unter zeitweiligem Umschütteln 5—6 Stunden lang ausgezogen und filtriert; das Filtrat wird durch Nachwaschen auf 20 cm^3 gebracht und in einem engen Probierröhrchen oder Glaszylinder mit 10—15 Tropfen einer kalt gesättigten Lösung von Natriumbikarbonat versetzt und kräftig durchgeschüttelt. Die Natriumbikarbonatlösung ist nach dem Absetzen bei Gegenwart von Mutterkorn violett gefärbt. Aus der violetten Lösung läßt sich durch Übersättigen mit verdünnter Schwefelsäure und erneutes Ausschütteln mit Äther eine reine Lösung des Mutterkornfarbstoffes erzielen, die spektroskopisch genauer geprüft werden kann.

10. Nachweis von Alaun, Kupfer, Zink und Blei.

Zum Nachweis von Alaun[3] im Mehle wird dieses in einem Probierglase mit etwas Wasser und Alkohol durchfeuchtet. Dann werden einige Tropfen frisch bereiteter Kampecheholztinktur (5 *g* Kampecheholz digeriert mit 100 cm^3 95%igem Alkohol) zugefügt, worauf das Glas mit gesättigter Kochsalzlösung aufgefüllt wird. Bei einem Alaungehalte von 0·05 bis 0·10% nimmt die überstehende, klar gewordene Flüssigkeit eine blaue, bei einem Alaungehalte von 0·01% eine violettrote Färbung an.

Oder man rührt 10 *g* Mehl mit 50 *g* Wasser an und filtriert. Zum Filtrat fügt man einige Tropfen gesättigte, alkoholische oder essigsaure

[1]) *König*, Chemie der menschl. Nahrungs- und Genußmittel. III. Aufl. Bd. 2. S. 548. Bestimmung der Rohfaser im Feinmehl.

[2]) *A. Hilger*, Archiv f. Pharm. S. 828 (1885).

[3]) *Herz*, Repert. f. anal. Chemie. S. 359 (1886).

Cochenilletinktur. Durch Alaun wird die gelbrote Farbe der Tinktur in eine karminrote verwandelt. Diese Probe ist schärfer als die vorherige.

Um Zink nachzuweisen, kann das Mehl nicht verascht werden, es muß vielmehr mittelst konzentrierter Schwefelsäure wie bei der Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* zerstört werden. Man rechnet für 1 *g* Mehl 5 cm^3 konzentrierte Schwefelsäure und verwendet gewöhnlich 25 *g*.

Ist zur Zerstörung Quecksilber zugesetzt worden, so wird dies zunächst durch Schwefelwasserstoff ausgefällt. Das Filtrat vom Schwefelquecksilber wird in einer Porzellanschale erhitzt, bis der Schwefelwasserstoff verjagt ist. Zur Oxydation des Ferrosulfats wird Salpetersäure zugefügt, dann übersättigt man mit konzentriertem Ammoniak und filtriert den Niederschlag ab. Das Filtrat wird mit Essigsäure schwach angesäuert und mit Schwefelwasserstoff auf Zink geprüft. Entsteht ein weißer Niederschlag von Schwefelzink, so wird mit Wasser verdünnt und der Niederschlag nach 24stündigem Stehen abfiltriert, mit schwefelwasserstoff- und ammonnitrathaltigem Wasser ausgewaschen, geglüht und als Zinkoxyd gewogen.

In derselben Weise kann die organische Substanz mit Schwefelsäure zerstört werden, um andere Metalle im Mehle zu bestimmen.

11. Bestimmung des Klebers (bei Weizenmehlen).

25 *g* Mehl werden mit 13 cm^3 Wasser in einer Porzellanschale mit Hilfe eines Spatels zu einem gleichmäßigen Teig verknetet. Man läßt ihn zugedeckt 1 Stunde liegen und wäscht ihn frei oder in einem leinenen Beutel unter dem dünnen Strahle der Wasserleitung durch Kneten so lange aus, bis das Waschwasser frei von Stärke ist und klar abläuft. Zur Vermeidung von Verlusten läßt man das ablaufende Wasser durch ein Sieb aus feiner Müllergaze (Nr. 12) fließen, um losgerissene Kleberteile zu sammeln. Der Kleber wird frisch gewogen[1], seine äußeren Eigenschaften (Farbe, Dehnbarkeit) werden vermerkt, und in einem abgewogenen Teile wird bei 105° die Trockensubstanz ermittelt.

Die Bestimmung ist mindestens zweimal auszuführen.

12. Nachweis von Bleichmitteln.

Zum Bleichen von Mehl wird nur das Stickoxyd benutzt. Zum Nachweis wird der wässerige Auszug mit Jodzinkstärkelösung und Schwefelsäure auf salpetrige Säure geprüft.

13. Nachweis von schwefliger Säure.

Geschwefeltes Mehl kommt im Handel nicht vor, soll aber darauf geprüft werden, so ist im Kohlensäurestrom unter Zusatz von Phosphorsäure zu destillieren und das Destillat mit Jodsäurestärkelösung auf schweflige Säure zu prüfen.

14. Unterscheidung von Mehlarten.

Die einzelnen Mehlarten werden in Mischungen nur durch mikroskopische Prüfungsverfahren erkannt, die chemischen versagen fast alle.

[1] *Sellnick* empfiehlt das Volumen des Klebers zu bestimmen, indem man ihn in einen mit Wasser halbgefüllten Meßzylinder wirft.

Der Bau der Stärkekörner und charakteristische Gewebselemente der einzelnen Getreidearten dienen zur Unterscheidung und Erkennung.

Die biologischen Verfahren versagen leider meistens, weil die einzelnen Arten zu nahe verwandt sind. Z. B. wirkt mit Weizenalbumosen hergestelltes Serum auch auf Roggen und Erbsen, nicht auf Haferalbumosen. Man darf daher keine hochwertigen Sera verwenden oder muß die elektive Fällung vornehmen. Vorläufig wird sich daher die Nahrungsmittelchemie dieser Verfahren in der Praxis nicht bedienen können, sie haben bislang nur wissenschaftliches Interesse und gewähren einen Einblick in die nähere oder weitere Verwandtschaft der Getreidearten.

Bei erhitzten Backwaren versagt die Reaktion überhaupt.

3. Brot.

Mittlere prozentische Zusammensetzung der Brotarten nach *J. König* (l. c.).

	Zahl der Analysen	Wasser	Stickstoffsubstanz	Fett	Zucker	N-freie Extraktstoffe	Rohfaser	Asche
		Prozente						
Weizenbrot, feineres	24	36·66	6·81	0·54	2·01	55·79	0·31	0·88
„ gröberes	17	37·27	8·44	0·91	3·19	47·80	1·12	1·27
Grahambrot	4	41·08	8·10	0·72	47·56		1·02	1·52
Roggenbrot, feineres	39	39·7	6·43	1·14	2·51	47·93	0·80	1·49
Kommisbrot, mit 15% Kleieauszug	18	38·88	6·04	0·40	3·05	48·51	1·55	1·57
Pumpernickel	10	42·22	7·16	1·30	3·28	43·16	1·48	1·40
Weizen-Roggenbrot	10	38·46	7·47	0·30	51·78		0·58	1·41
Zwieback, Schiffs-	21	9·54	9·91	2·55	2·20	73·25	0·85	1·70
„ feinerer	3	9·28	12·53	4·44	4·15	67·90	0·58	1·20
„ feinster (Kakes)	4	7·48	8·8	9·07	17·8	55·64	0·39	0·82

1. Bestimmung des Wassergehaltes.

Der Wassergehalt des Brotes wird durch Trocknen von 5—10 g der vorgetrockneten und zu Pulver zerriebenen Krume bei 105° bestimmt.

2. Bestimmung der Gesamtasche und des in Salzsäure unlöslichen Teiles.

Diese Bestimmung erfolgt in gleicher Weise wie beim Mehl (S. 218).

3. Bestimmung des Säuregehaltes.

Wie für Mehl so gibt es auch für Brot eine allgemein brauchbare Methode zur Bestimmung des Säuregehaltes nicht.

Nach *K. B. Lehmann* [1]) wird der Gesamtsäuregehalt im Brote in der Weise bestimmt, daß der wässerige Brotbrei (50 g rindenfreie

[1]) *K. B. Lehmann,* Säurebestimmung im Brot. Arch. f. Hygiene Bd. 19, S. [illegible]

Brotkrume auf ca. 200 *cm*³ Wasser) mit ¼-Normalnatronlauge und Phenolphtalein als Indikator titriert wird. *Lehmann* drückt den Säuregehalt des Brotes durch die Anzahl Kubikzentimeter Normalnatronlauge aus, welche zur Titration von 100 *g* frischer Krume erforderlich sind.

4. Nachweis von Alaun, Kupfer und Zink.

Zum Nachweis von Alaun taucht man das Brot 6—7 Minuten in Kampecheholztinktur (durch Digerieren von 5 *g* Kampecheholz mit 100 *cm*³ 95%igem Alkohol erhalten) und drückt es aus. Nach 2—3 Stunden zeigt das Brot bei Alaunzusatz eine violette Färbung.
Kupfer- und Zinkverbindungen werden wie im Mehl nachgewiesen.

5. Bestimmung der einzelnen Nährstoffe.

Erfolgt wie beim Mehl.

Bei der Bestimmung des Fettgehaltes im Brot ist zu bemerken, daß vor dem Ausziehen mit Äther invertiert werden muß.[1] Man verfährt nach *Polenske*[2] in folgender Weise:

In einer 200 *cm*³ fassenden Glasstöpselflasche werden 10 *g* Brotpulver mit 50 *cm*³ Wasser und 1 *cm*³ Salzsäure vom spez. Gew. 1·124 gemischt. Durch 1½ stündiges Einstellen des lose verschlossenen Gefäßes in kochendes Wasser wird die Stärke invertiert. Die noch heiße Flüssigkeit wird vorsichtig mit ca. 1 *g* gepulvertem Marmor versetzt und nach dem Erkalten mit genau 50 *cm*³ Chloroform 15 Minuten lang ausgeschüttelt. Nach 24 stündigem Stehen werden aus der klaren Chloroformfettlösung 20—25 *cm*³ mittelst Pipette entnommen. Bei der Einführung ist es notwendig, während sie durch die wässerige Flüssigkeit hindurchgeht, einen schwachen Luftstrom hindurchzuleiten. Der Inhalt der Pipette wird durch ein mit Chloroform angefeuchtetes Filter gegeben, das Filter mit Chloroform nachgewaschen und das gesamte Filtrat verdunstet. Der Rückstand wird bei 105° getrocknet und gewogen.

6. Feststellung des Verhältnisses zwischen Krume und Rinde, des spezifischen Gewichtes, des Porenvolumens, des Trockenvolumens und der Porengröße.

Je nach der Größe des Brotes wird entweder ein ganzes Brot oder ein geeigneter Ausschnitt mit einem Messer in Rinde und Krume zerlegt und das Gewicht beider festgestellt.

Bezüglich der übrigen Bestimmungen sei auf die Arbeiten von *K. B. Lehmann*[3] verwiesen.

[1] *Weibull*, Fettbestimmung im Brot. Zeitschr. f. angew. Chem. S. 450 (1892).

[2] *Polenske*, Fettbestimmung im Brot. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 8. S. 678 (1893).

[3] *K. B. Lehmann*, Hygienische Studien über Mehl und Brot. Arch. f. Hygiene. Bd. 21. S. 215.

7. Nachweis von Eosin.

Zum Nachweis von eosinhaltiger Gerste[1]), welche zur Herstellung von Brot verwendet werden könnte, werden 100 *g* Brot in einem Erlenmeyerkolben mit 150 cm^3 eines Gemisches gleicher Raumteile Alkohols und Wassers, denen 2 cm^3 konzentrierte Salzsäure zugesetzt worden sind, übergossen und mehrmals durchgeschüttelt. Nach 1 Stunde wird die Flüssigkeit abgegossen und der Rückstand mit 50 cm^3 des Alkohol-Wassergemisches nachgewaschen. Die vereinigten Flüssigkeiten werden filtriert und auf dem Wasserbade in einer Porzellanschale auf etwa 20 cm^3 eingeengt. Diese Lösung wird mit 5 cm^3 Ammoniakflüssigkeit versetzt, in einen Scheidetrichter filtriert und durch Ausschütteln mit Äther wiederholt gereinigt, bis der Äther nicht mehr gefärbt erscheint.

Die Anwesenheit von Eosin gibt sich durch deutliche grüne Fluoreszenz der ammoniakalischen Lösung zu erkennen. Das Eosin wird nach dem Ansäuern der Flüssigkeit mit verdünnter Salzsäure durch 3maliges Ausschütteln mit etwa 10 cm^3 Äther ausgezogen, und die ätherischen Auszüge werden 3mal durch Schütteln mit geringen Mengen Wasser gereinigt.

Ist Eosin vorhanden, so färbt sich die ätherische Lösung beim freiwilligen Verdunsten rosenrot, wenn man Ammoniakdämpfe darüber bläst. Auch der Rückstand, welcher nach dem vollständigen Verdunsten des Äthers verbleibt, wird bei Einwirkung von Ammoniakdampf rot gefärbt. Die rote Färbung kann aber auch durch Extraktstoffe verdeckt werden, deshalb ist der Nachweis von Eosin sowohl auf die Fluoreszenz der ammoniakalischen Lösung als auch auf die rosenrote Färbung des ätherischen Auszuges zu gründen.

4. Präparierte Mehle.

Kindermehle, Suppenmehle, Suppentafeln, Malzextrakt und dergleichen.

Diese werden im allgemeinen wie Mehl untersucht.

Zur Bestimmung von Zucker, Dextrin und Stärke in Kindermehl werden 5—10 *g* mit Wasser ausgezogen; man füllt auf 1 *l* auf und läßt klar absitzen. In einem abgemessenen Teil der Lösung bestimmt man Zucker (als Maltose) und Dextrin, in dem ungelösten Anteil die Stärke. Oder man bestimmt in der ursprünglichen Substanz Zucker + Dextrin + Stärke und zieht hiervon das Gelöste von Zucker + Dextrin ab (siehe unter Mehl, S. 219).

Gerber und *Radenhausen*[2]) geben folgendes Verfahren an:

a) Von diastasierten Kindermehlen verrührt man nach dem Entfetten 3—5 *g* mit dem 10fachen Gewicht Wasser, digeriert 3 Stunden bei 70—75

[1]) Nach der amtlichen Anweisung für die technische und chemische Untersuchung der Gerste und ihrer Erzeugnisse aus gekennzeichneter Gerste.

[2]) *N. Gerber*, Untersuchung der Milcharten und Kindermilch. S. 81.

Mittlere prozentische Zusammensetzung einiger Kindermehle nach *J. König* (l. c.).

	Wasser	Stickstoffsubstanz	Fett	Kohlenhydrate in kaltem Wasser löslich	Kohlenhydrate in kaltem Wasser unlöslich	Rohfaser	Asche	Phosphorsäure	Kalk
	Prozente								
W. Nestlé, Vevey	6·01	9·94	4·53	42·75	34·70	0·32	1·75	0·59	0·32
Faust & Schuster, Göttingen	6·54	10·79	4·55	43·21	32·99	—	1·92	0·51	—
Muffler	5·63	14·37	5·80	27·41	44·22	0·34	2·39	0·95	0·91
Th. Timpe . .	7·32	19·96	5·45	35·34	29·11	—	2·82	0·72	—
Kufeke	8·37	13·24	1·69	23·71	50·17	0·59	2·23	0·69	0·11
Theinhardt . .	4·65	16·35	5·18	52·60	16·87	0·81	3·54	0·98	0·67
Rademann . .	5·58	14·15	5·58	17·29	52·74	0·73	3·93	1·72	1·04
Klopfer	7·19	27·85	2·65	56·42	2·71	0·81	2·37	—	—
Mellins Food .	6·15	7·80	0·29	75·65	6·93		3·17	0·58	0·16
Ötli, Vevey u. Co. in Montreux .	6·89	10·11	5·16	42·30	33·29	0·50	1·75	—	—
Gerber & Co. .	4·96	13·01	4·58	44·58	32·93	0·50	1·40	0·47	—

und setzt 100 *cm*³ Weingeist von 50°/₀ zu. Nachdem sich die Lösung geklärt hat, wird mit Hilfe der Saugpumpe filtriert und der Rückstand mit 50°/₀igem Weingeist ausgewaschen. Das Filtrat wird auf 500 *cm*³ aufgefüllt und ein abgemessener Teil auf ¹/₄ seines Volumens eingedampft. Ein etwaiger Niederschlag, welcher aus Eiweiß besteht, wird abfiltriert und das Filtrat in einer Platinschale eingedampft, bei 100—105° getrocknet, gewogen und verascht. Extrakt weniger Asche ist die Menge der löslichen Kohlenhydrate.

b) bei gewöhnlichen Kindermehlen werden ebenfalls 3—5 *g* nach dem Entfetten mit der 10fachen Menge Wasser angerührt, 5 Minuten lang unter Umrühren gekocht und nach dem Erkalten mit 100 *cm*³ 50°/₀igem Weingeist versetzt. Man läßt absetzen, filtriert und wäscht den Rückstand wiederholt mit 50°/₀igem Alkohol aus. Sonst verfährt man wie vorher.

c) Den Rückstand benutzt man zur Bestimmung der unlöslichen Kohlenhydrate, indem man ihn mit 200 *cm*³ Wasser und 20 *cm*³ Salzsäure versetzt und 3 Stunden im siedenden Wasser erhitzt. Dann filtriert man in einen Literkolben, wäscht nach, neutralisiert mit Natronlauge und füllt auf 1000 *cm*³ auf. In einem abgemessenen Teil wird die Dextrose nach S. 124 bestimmt und durch Multiplikation mit 0·9 auf Stärke umgerechnet.

5. Teigwaren (Nudeln, Makkaroni).

Den Wassergehalt, Aschengehalt, Alaungehalt, Stickstoffgehalt usw. bestimmt man in der feingemahlenen Substanz, wie unter Mehl angegeben worden ist.

1. Nachweis von Eizusatz.

Präparate, welche Eier enthalten sollen, müssen darauf geprüft werden, ob überhaupt und wie viele Eier zugesetzt worden sind. Der Nachweis beruht darauf, daß durch die Eier der Gehalt der Teigwaren an ätherlöslichen Stoffen (Fetten) und an Lezithinphosphorsäure bedeutend erhöht wird.

Qualitativ wird der Nachweis dadurch geführt, daß man auf Anwesenheit von Cholesterin prüft. Dies geschieht nach *Juckenack*[1] in der Weise, daß man 15 *g* der Masse mit 30 *cm*³ Äther übergießt und mehrere Stunden stehen läßt. Man filtriert, zieht nochmals mit Äther aus, verdunstet den Äther und verseift den Rückstand mit alkoholischer Kalilauge. Die Seife löst man in 50 *cm*³ Wasser und schüttelt mit Äther aus; dieser wird mehrmals mit Wasser gewaschen und verdunstet. Der Rückstand wird in 12 *cm*³ Chloroform gelöst. Die Hälfte läßt man auf einem Uhrschälchen verdunsten, kristallisiert den Rückstand aus absolutem Alkohol um und prüft die Kristalle unterm Mikroskop auf die Kristallform des Cholesterins. Läßt man dann vom Rande her konzentrierte Schwefelsäure, welche mit $^1/_5$ Wasser verdünnt ist, zufließen, so färben sich die Kristalle karminrot und auf Zusatz von Jodkalium violett.

Die andere Hälfte der Chloroformlösung wird auf zwei Reagenzgläser verteilt; in einem unterschichtet man mit konzentrierter Schwefelsäure und läßt 3 Stunden stehen. Ist kein Cholesterin zugegen, so färbt sich die Lösung schwach rosa (Phytosterin), ist Cholesterin zugegen, so färbt sie sich stark rosa. Den letzten Teil der Chloroformlösung läßt man verdunsten und löst den Rückstand in 3 *cm*³ Essigsäureanhydrid. Schüttelt man diese Lösung mit einem Tropfen konzentrierter Schwefelsäure, so tritt rötliche, bald ins Grünliche übergehende Färbung auf *(Liebermann)*; war nur ein Eidotter in 1 Pfd. Mehl enthalten, so ist die Färbung vorübergehend rosenrot, dann tief blau bis blaugrün.

G. Popp[2]) verfährt zur Isolierung des Cholesterins wie vorher und weist es dann in der ätherischen Lösung durch Zusatz von einigen Tropfen Brom in Eisessig (1 *g* Brom in 10 *cm*³ Eisessig) nach, wobei nadelförmige Büschel von Dibromcholesterin entstehen.

Die quantitative Eibestimmung geschieht nach *J. Juckenack*[3]) folgendermaßen:

a) Bestimmung der Lezithinphosphorsäure.

Etwa 30 *g* der feingemahlenen Teigware werden getrocknet und wenigstens 12 Stunden mit absolutem Alkohol ausgezogen. Der Rückstand wird mit 5 *cm*³ alkoholischer Kalilauge (200 *g* KOH in 1 Liter 70%igem Alkohol) verseift, in einer Platinschale zur Trockene verdampft und verkohlt. Man zieht mit Salpetersäure aus, filtriert und verascht das Filter

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel (1906).
[2]) Zeitschr. f. öffentl. Chemie. S. 459 (1908).
[3]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 3. S. 1 (1900).

und die Kohle vollständig. Die Asche wird wieder mit Salpetersäure aufgenommen und das Gelöste dem ersten Filtrat zugefügt. Die Phosphorsäure wird nach S. 153 bestimmt und auf getrocknete Substanz berechnet.

Einfacher ist das Verfahren von *Arragon*[1]: 50 *g* der feingemahlenen Teigware gibt man in einen 300 cm^3-Kolben, fügt 150 cm^3 Alkohol hinzu und wiegt. Man läßt dann den Alkohol eine Stunde am Rückflußkühler kochen, wiegt wieder und ergänzt den etwa verdampften Alkohol. Nach dem Filtrieren gibt man 100 cm^3 in eine Platinschale, fügt 2 *g* Salpeter, 3 *g* wasserfreie Soda und 20 cm^3 Wasser hinzu, läßt verdunsten und verascht. Der Rückstand wird wie vorher behandelt.

b) Bestimmung des Ätherextraktes.

20 *g* der feingemahlenen Teigware werden 6 Stunden lang mit Äther im *Soxhlet*schen Apparat ausgezogen; das Extrakt wird nach Entfernung des Äthers getrocknet und gewogen.

Aus der folgenden Tabelle ist dann durch Kombination der gefundenen Mengen Ätherextraktes und Lezithinphosphorsäure der annähernde Gehalt an Eisubstanz zu entnehmen.

Da im allgemeinen 2 Eier auf $^1/_2$ *kg* Mehl gefordert werden, so ist der niedrigste Gehalt an Lezithinphosphorsäure 0·045% und an Ätherextrakt 2%.

Übrigens läßt sich auch mit Hilfe der biologischen Methode der Einachweis führen. Leider versagt dieses Verfahren bei stark erhitzten Teigwaren und eignet sich auch nicht zur quantitativen Bestimmung, worauf es hauptsächlich ankommt.

Eier auf 1 Pfund Mehl	Bei Verwendung des Gesamteiinhaltes enthält die Trockensubstanz der Nudeln im Mittel			Bei Verwendung von Eidotter enthält die Trockensubstanz der Nudeln im Mittel		
	Asche	Lezithinphosphorsäure	Ätherextrakt	Asche	Lezithinphosphorsäure	Ätherextrakt
	in Prozenten			in Prozenten		
1	0·565	0·0513	1·56	0·488	0·0518	1·57
2	0·664	0·0786	2·42	0·516	0·0801	2·47
3	0·758	0·1044	3·24	0·542	0·1075	3·33
4	0·848	0·1289	4·01	0·568	0·1339	4·17
5	0·933	0·1522	4·75	0·593	0·1594	4·98
6	1·013	0·1744	5·45	0·617	0·1842	5·75
7	1·090	0·1954	6·11	0·640	0·2081	6·51
8	1·163	0·2155	6·75	0·662	0·2313	7·26

2. Nachweis von Farbstoffen.

Teigwaren werden vielfach mit gelben Farbstoffen gefärbt, um einen höheren Eigehalt vorzutäuschen; aber auch solche ohne Eigehalt

[1] Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. S. 520 (1906).

werden gelb gefärbt, und es ist deshalb häufig notwendig, auf künstliche Färbung zu prüfen.

a) Verfahren von Juckenack.[1]) In zwei Reagenzgläser von 25—30 cm^3 Inhalt werden je 10 g der feingemahlenen Teigwaren gebracht, in das eine werden 15 cm^3 Äther, in das andere 15 cm^3 70%igen Alkohols gebracht; darauf läßt man 12 Stunden extrahieren. Bleibt der Äther ungefärbt und ist der Alkohol deutlich gelb gefärbt, dann ist Farbstoff sicher vorhanden. Dies erkennt man auch schon daran, daß die Substanz unter dem Alkohol farblos geworden ist, die unter dem Äther nicht.

Färben sich beide Lösungsmittel, Alkohol und Äther, gelb, dann kann die Färbung entweder von dem natürlichen Farbstoff des Mehles, dem Luteïn, allein, oder von Luteïn und künstlichem Farbstoff herrühren. Man prüft in diesem Falle zunächst die ätherische Lösung nach *Weyl* mit salpetriger Säure. Luteïn entfärbt sich hierbei sofort; bleibt die Lösung gelb, so ist ein fremder Farbstoff vorhanden.

Ist die Teigmasse durch Alkohol entfärbt worden, durch Äther aber nicht, so ist neben Luteïn noch ein fremder Farbstoff vorhanden; man schüttelt dann noch dreimal mit neuem Äther aus, bis der Äther farblos bleibt. Darauf wird mit 70%igem Alkohol wieder 12 Stunden lang extrahiert, wobei der künstliche Farbstoff, wenn er in Äther unlöslich ist, gelöst wird und den Alkohol gelb färbt.

b) Schmitz-Dumont[2]) weist Tropäolin durch Befeuchten mit verdünnter Salzsäure nach. Es entstehen dann blaßrote, kirschrote und violette Färbungen. Weizengrieß wird auch allein häufig violett gefärbt, aber die Färbung entsteht erst nach einiger Zeit.

c) Coreil[3]) zieht die Teigwaren zunächst mit Alkohol aus und färbt dann einen Wollfaden unter Zusatz von Weinsäure, wobei auf dem Wasserbade eingedampft wird. Dieser Wollfaden wird zunächst mit Äther gewaschen, um das Luteïn zu entfernen und darauf mit konzentrierter Schwefelsäure behandelt. Wird die Farbe nur vorübergehend blau, so liegt Safranfarbstoff vor, entsteht eine indigoblaue beständige Farbe, so liegt Orleanfarbstoff vor. Tropäolin wird dagegen rotviolett oder bräunlich gelb gefärbt.

Entsteht kein Farbenwechsel, so ist Curcuma durch Behandeln mit Borsäure, Pikrinsäure durch die Pikraminsäurereaktion (Rotfärbung mit Zyankali in Kalilauge) zu erkennen. Martiusgelb wird von heißem Wasser gelöst, Kalilauge erzeugt keinen, Salzsäure einen weißlichen Niederschlag.

6. Backwaren.

Zum Nachweis von Rohrzucker in Cakes und ähnlichen Backwaren verfährt man nach der unter Zucker angegebenen Methode.

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 3, S. 1 (1900).

[2]) Zeitschr. f. öffentl. Chemie. S. 402 (1902).

[3]) Journ. Pharm. et Chim. 1888, 18, 394.

Die übrigen Untersuchungsverfahren sind die gleichen wie die unter 1.—5. angeführten.

Gewürze.

Als Gewürze bezeichnet man Pflanzenteile, die wegen ihrer charakteristischen Bestandteile, welche vorwiegend aus flüchtigen Ölen, aromatischen Körpern, Harzen und Farbstoffen bestehen, zum Würzen von Nahrungsmitteln verwendet werden und eine wichtige Rolle bei der Ernährung spielen.

Allgemeine Untersuchungsverfahren.

Die chemische Untersuchung der Gewürze beschränkt sich in vielen Fällen auf die Bestimmung des Aschengehalts, des in 10%iger Salzsäure unlöslichen Teiles der Asche und auf nähere Untersuchung der Aschenbestandteile. In manchen Fällen ist die Bestimmung von Wasser, Stickstoff, Fett und ätherischen Ölen, in anderen die Bestimmung des alkoholischen oder ätherischen Extraktes, der Stärke, der Pentosane, der in Zucker überführbaren Stoffe und der Rohfaser für die Beurteilung wichtig.

1. Bestimmung der Asche und des in Salzsäure unlöslichen Teiles.

Zur vorläufigen Orientierung über das Vorhandensein größerer Sandmengen in gemahlenen Gewürzen kann die bei Mehl beschriebene Chloroformprobe (Seite 218) dienen, zu der 5—10 *g* Substanz ausreichen.

Zur Bestimmung der Asche werden etwa 5—10 *g* des gut durchgemischten Gewürzes in einer Platinschale mit möglichst kleiner Flamme verbrannt. Für Safran genügen 2 *g* (siehe allgemeine Untersuchungsverfahren S. 152).

Zur Bestimmung des in Salzsäure unlöslichen Teiles (Sand, Ton usw.) wird die Asche mit 10%iger Salzsäure eine Stunde lang bei etwa 30—40° behandelt. Der Rückstand wird filtriert, ausgewaschen und nach dem Glühen gewogen.

2. Bestimmung des Gewichtsverlustes bei 100°.

Mit Rücksicht auf die fast in allen Gewürzen enthaltenen flüchtigen Bestandteile hat die Bestimmung des Gewichtsverlustes bei 100° sowie des Wassergehaltes keinen großen Wert. Ist sie aber erforderlich, so müssen die feingemahlenen Gewürze zunächst 24 Stunden im Exsikkator vorgetrocknet und dann 2 Stunden im Wassertrockenschrank fertig getrocknet werden.

3. Bestimmung des alkoholischen oder ätherischen Extraktes.

5 *g* des feingemahlenen Gewürzpulvers werden bei 100° getrocknet und in einer Papierhülse im *Soxhlet*schen Extraktionsapparat 8—12 Stunden lang entweder mit Alkohol oder Äther ausgezogen. Die Papierhülse

mit Inhalt wird dann bei 100° getrocknet, und der Gewichtsverlust vor und nach dem Ausziehen ergibt den in Alkohol oder Äther löslichen Anteil.

4. Bestimmung der Stärke.

Dies geschieht nach den „Allgemeinen Methoden", S. 146.

Nach *E. v. Raumer* [1]) werden 5 *g* Gewürz mit 200 *cm*³ Wasser ½ Stunde gekocht. Nach dem Abkühlen auf 65° und Ergänzen des verdampften Wassers wird die Flüssigkeit mit 0·05 bis 0·1 *g* reiner zuckerfreier Diastaselösung nach *Lintner* versetzt und 4—5 Stunden auf 65° erwärmt. Zur Klärung werden dann 25 *cm*³ Bleiessig zugesetzt und das Ganze wird zu 250 *cm*³ aufgefüllt. Man läßt eine Stunde ruhig stehen und filtriert 200 *cm*³ ab. Im Filtrat wird das Blei mit doppeltkohlensaurem Kali gefällt und die Lösung wieder auf 250 *cm*³ aufgefüllt. Davon werden 200 *cm*³ abfiltriert. Das Filtrat wird mit Essigsäure neutralisiert, mit 20 *cm*³ Salzsäure (S = 1·124) versetzt und 2½ Stunden am Rückflußkühler erhitzt. Die Zuckerbestimmung erfolgt dann nach den allgemeinen Untersuchungsmethoden S. 124.

5. Bestimmung der Rohfaser.

Die Rohfaser wird nach dem *Weender*-Verfahren, S. 150, bestimmt.

Bessere Resultate werden aber mit der von *Spät* [2]) vorgeschlagenen Änderung erhalten, welcher 3 *g* der feingemahlenen Ware, nachdem sie durch ein 0·5 *mm*-Sieb gegeben worden ist, in einem Kolben mit 50 *cm*³ Alkohol und 25 *cm*³ Äther versetzt. Darauf wird eine Stunde am Rückflußkühler heiß extrahiert, durch ein Asbestfilter filtriert und der Rückstand ausgewaschen. Das Filter nebst Rückstand wird zur Rohfaserbestimmung nach *Weender* verwendet.

6. Bestimmung des Gehaltes an ätherischen Ölen.

Das ätherische Öl wird durch Einleiten von Wasserdampf abdestilliert, das Destillat ausgesalzen und mit Äther ausgeschüttelt. Den Äther läßt man verdunsten und trocknet den Rückstand bei 15°.

7. Die Stickstoffbestimmung.

Sie erfolgt nach *Kjeldahl*, S. 104.

Die Untersuchung der einzelnen Gewürze erfolgt einerseits auf chemischem Wege, in der Hauptsache aber mit Hilfe des Mikroskops. Da hier nur die chemischen Verfahren beschrieben werden sollen, so werden auch nur diejenigen Gewürze erörtert werden, für welche es außer den angeführten noch besondere Untersuchungsverfahren gibt.

1. Ingwer.

Erforderlich ist die Bestimmung der Asche und des in Salzsäure unlöslichen Teiles. Ingwerpulver ist ferner zu prüfen, ob es schon extrahiert worden ist. Dies erkennt man am Äther- und Alkoholextrakt;

[1]) Zeitschr. f. angew. Chemie. S. 455 (1893).
[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. S. 589 (1905).

Prozentische Zusammensetzung

		Wasser	Stickstoffsubstanz	Ätherisches Öl	Gesamtätherextrakt (Fett)	Petrolätherextrakt
Muskatnuß	Myristica fragans .	10·62	6·22	3·59	34·35	—
	„ argentea .	9·92	6·95	4·70	35·47	—
Mazis	Echte (Banda) . .	10·48	6·33	7·43	23·25	21·85
	Papua-	9·18	6·68	5·89	54·28	52·72
	Wilde (Bombay) . .	7·04	5·05	Spur	60·06	32·64
Capsicum	Paprika	11·21	15·47	1·12	12·49	9·83
	Cayennepfeffer . .	8·02	13·97	1·12	19·06	—
	Nelkenpfeffer . .	9·69	5·19	4·07	6·37	—
Gewürznelken	Blütenknospe . .	7·86	6·06	17·61	7·16	—
	Stiele	9·22	5·84	4·80	3·89	
Ingwer	Reiner	11·84	7·07	1·35	3·68	1·79
	Abfall-	4·09	—	(6·56)	6·16	—
	Gebrauchter . . .	11·73	8·00	0·40	2·75	0·76
Zimmt	Ceylon-	8·87	3·71	1·53	1·73	—
	Chinesischer . . .	10·88	3·56	1·31	1·96	—
	Holz-Cassia . . .	8·00	4·22	3·69	2·75	
Pfeffer	Schwarzer . . .	13·04	12·22	1·27	7·77	—
	Weißer	13·72	11·73	0·81	6·58	
	Schalen- . . .	11·51	14·33	0·97	3·04	—
	Staub-	9·30	13·53	1·04	4·37	—
						Myrosin-Albumin
Senfsamen	Weißer	7·18	27·59	0·87	28·79	26·28
	Schwarzer . . .	7·57	29·11	0·93	27·28	27·03
	Senfmehl	5·63	32·55	0·66	32·21	28·87
	Kümmel	13·15	19·84	2·23	16·50	—
	Anis	12·33	17·25	2·24	9·58	—
	Koriander . . .	11·37	11·49	0·84	19·15	—
	Fenchel	12·36	17·15	3·96	9·17	
	Vanille . .	28·39	3·71	0·62	8·19 (Wachs)	—
	Safran . .	15·62	12·41	0·60	5·63	—

der Gewürze. Nach *J. König* l. c.

Alkohol-extrakt	Wasser-extrakt	Stärke	Sonstige N-freie Substanz	Rohfaser	Asche	In Zucker überführbare Stoffe		
11·98	—	23·67	12·92	5·60	3·02	—	—	
16·78	—	29·25	8·39	2·07	2·74	—	—	
—	—	24·54	29·12	4·20	2·11		—	—
—	—	8·78	14·41	4·57	2·10			
—		14·51	3·79	8·17	1·38			—
31·82	—	—	34·78	20·76	5·17	—	—	
24·49	—	1·13	29·11	21·98	5·61	8·47		
12·68	—	3·04	46·04	20·90	4·75	18·03		
15·01	—	2·67	25·85	8·37	6·18	8·90		
6·79	—	2·10	30·72	17·00	7·64	14·13		
5·79	12·02	54·53	12·81	4·16	4·56	57·45		—
10·30	16·18	25·25	—	10·97	8·63	35·81	—	
3·20	8·46	54·57	14·96	5·17	2·42	59·86		—
12·85	—	—	25·64	34·44	4·44	19·64	—	
5·32	—	—	28·84	21·82	4·55	27·08	—	
6·60	—		30·85	23·43	5·22	21·84		—
							Piperin	Piperidin
11·03	—	33·46	14·83	12·94	4·47	38·27	6·61	0·56
9·08		55·70	5·38	4·39	1·69	54·75	6·67	0·32
10·19	—	7·42	15·33	35·55	11·85	11·75	1·95	—
6·30	—	14·72	16·75	30·08	10·16	21·34	0·96	—
						Myronsaures Kalium	Rhodan-Sinapin	Schwefel
—	—		22·55	8·55	4·47	2·35	11·40	1·05
	—	—	19·27	10·15	4·98	2·81	11·25	1·34
	—		18·70	5·85	4·40	2·17	11·12	1·33
								Zucker
10·55		4·53	14·36	20·07	6·20			3·12
—	—	5·13	26·18	14·31	8·44		—	4·27
—	—	10·53	11·29	28·43	4·98		—	1·92
13·45	22·78	14·89	15·40	14·50	7·88			4·79
							Vanillin	
	—		29·78	17·43	4·78	—	1·16 bis 2·75	7·72
—		—	43·64	4·48	4·27	13·35		

falls der Ingwer mit Wasser ausgezogen ist, muß auch das wässerige Extrakt bestimmt werden, welches kalt gewonnen wird.

2. Muskatblüte (Mazis).

Die Bestimmung der Asche und des Sandes erfolgt nach den allgemeinen Bestimmungsmethoden S. 152.

Da Mazis mitunter einen Zuckerüberzug erhält, so ist darauf zu prüfen, indem man kurze Zeit mit Wasser auszieht und den Auszug polarimetrisch auf Zucker prüft.

Zur Erkennung von extrahierter Mazis ist das Petrolätherextrakt und Ätherextrakt zu bestimmen. Zur Unterscheidung von echter Bandamazis von der wertlosen wilden Bombaymazis dienen folgende Verfahren:

Man zieht etwa 4—5 *g* mit der 10fachen Menge absoluten Alkohols aus, filtriert und prüft das Filtrat in folgender Weise:

a) Man versetzt 1 cm^3 der alkoholischen Lösung mit der 3fachen Menge Wasser und hierauf mit 1 cm^3 einer 1%igen Kaliumchromatlösung. Beim Erhitzen zum Sieden erscheint bei reiner Bandamazis eine hellgelbe, bei Bombaymazis eine lebhaft ockerartige oder sattbraune Färbung.

Ist Curcuma zugegen, so entsteht grünliche Färbung.

b) Man fügt zu 1 cm^3 des alkoholischen Auszuges 3 cm^3 Wasser und einige Tropfen Ammoniak hinzu; die Flüssigkeit färbt sich bei Anwesenheit von Bandamazis rosa, bei Bombaymazis tief orange bis gelbrot.

c) Versetzt man den alkoholischen Auszug mit basischem Bleiazetat, so entsteht bei Bombaymazis eine gelbrote, flockige Fällung.

Diese Reaktion ist aber nicht so charakteristisch wie die vorhergehenden.

Busse[1] benutzt die Kapillarmethode zum Nachweis von Banda- und Bombaymazis. Der alkoholische Auszug (1 : 10) wird filtriert und in Bechergläser gebracht. In diese hängt man Streifen von Filtrierpapier, in denen sich der Farbstoff langsam hochzieht. Nach etwa einer Stunde werden die Streifen herausgenommen, abgetrocknet und in heiße konzentrierte Barytlauge gelegt, dann auf Fließpapier getrocknet und mehrere Stunden an der Luft hängen gelassen. Bandamazis zeigt dann einen bräunlichgelben Gürtel, während der untere Teil blaßrötlich ist. Die gleiche Färbung gibt auch Papuamazis. Bombaymazis zeigt einen ziegelroten Gürtel; ist nur 5% vorhanden, so ist der Gürtel zwar etwas dunkler, aber der untere Teil ist ziegelrot gefärbt.

Um Papuamazis nachzuweisen, gibt *Griebel*[2] folgendes Verfahren an: 0·1 *g* feingemahlene echte Bandamazis und die gleiche Menge der fraglichen Mazis werden mit je 10 cm^3 leicht siedendem Petroläther übergossen und einige Zeit geschüttelt. Nach dem Filtrieren werden je 2 cm^3

---

[1] Arb. d. Kaiserl. Gesundheitsamtes. Bd. **12**. S. 628 (1896).

[2] Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. Bd. **18**. S. 202 (1909).

des Filtrates mit der gleichen Menge Eisessig gemischt und sofort vorsichtig mit konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. Reine Bandamazis gibt an der Berührungsstelle einen gelblichen Ring, Papuamazis je nach Menge sofort oder später eine rötliche Färbung. Wenn nach 1—2 Minuten die rötliche Färbung nicht deutlich auftritt, so ist die Reaktion negativ, da auch Bandamazis allmählich ähnliche Farbentöne zeigt. Bombaymazis gibt bei gleicher Behandlung überhaupt keine Färbung.

Auf diese Weise lassen sich aber nur größere Mengen von Papuamazis, etwa 20%, nachweisen. Ist die Reaktion nicht eindeutig, so verdünnt man noch mit der gleichen Menge Petroläther, dann treten die Färbungen zwar langsamer, aber deutlicher hervor.

Zur weiteren Aufklärung dient die Untersuchung des Fettes, welches mit Petroläther ausgezogen wird. Echte Mazis enthält bis 24% Fett vom Schmelzpunkt 25—26° und 4—15% ätherisches Öl. Die Jodzahl des Fettes schwankt zwischen 77 und 80, die Verseifungszahl zwischen 170 und 173. Bombaymazis enthält bis zu 35% Fett und fast kein ätherisches Öl; es besitzt die Jodzahl 50—53 und die Verseifungszahl 189—191.

3. Paprika.

Die Bestimmung der Asche und des Sandes erfolgt nach dem allgemeinen Verfahren, S. 152.

Wichtig ist noch die Bestimmung des Alkoholextraktes, welches für echte Paprika nicht unter 25% beträgt, für ganz oder teilweise extrahierte aber bedeutend tiefer liegt.

4. Safran.

Reiner Safran gibt mit konzentrierter Schwefelsäure Blaufärbung.

Nachweis fremder Farbstoffe.[1]

A. Der wässerige Auszug des reinen Safrans verändert mit verdünnter Salzsäure seine Farbe nur wenig, mit Kalilauge wird sie goldgelb.

a) Die Lösung wird auf Zusatz von Salzsäure entfärbt, Kalilauge stellt die ursprüngliche Farbe wieder her = Dinitrokresolkalium;

b) es entstehen durch Salzsäure gefärbte Niederschläge = Hexanitrodiphenylamin, Dinitronaphtholkalium.

B. Echter Safranauszug gibt mit Zink und Salzsäure oder mit schwefliger Säure behandelt ein farbloses Filtrat, welches sich weder auf Zusatz von Aldehyd noch bei längerem Stehen an der Luft wieder färbt.

a) Durch Reduktionsmittel entfärbte (Anilin-) Rosanilinfarbstoffe oxydieren sich an der Luft nicht zu gefärbten Verbindungen, wohl aber Azofarbstoffe.

[1]) Nach Vereinbarungen. Heft II. S. 67.

Durch schweflige Säure entfärbte Rosanilinfarbstoffe werden mit Zusatz von Aldehyd wieder rot.

C. Echter Safranauszug gibt mit Baryumhyperoxyd und Salzsäure farblose Lösung. Sulfosäuren der Azofarbstoffe werden nicht entfärbt.

D. Das Natriumsalz des Sulfanilsäureazodiphenylamins wird durch verdünnte Salzsäure violett gefärbt, gegen konzentrierte Schwefelsäure verhält sich dieser Farbstoff wie reiner Safran.

Das Natriumsalz des Xylidinsulfosäureazo-β-Naphthols gibt mit verdünnter Salzsäure einen braunroten Niederschlag, durch konzentrierte Schwefelsäure wird die Lösung kirschrot.

E. Korallin. Ammoniak löst es mit karminroter Farbe, auf Zusatz von Säuren entsteht eine gelbe Fällung, desgleichen mit Zinnchlorür.

F. Pikrinsäure. Salzsäure erzeugt keinen Niederschlag, mit Zinkstaub gekocht entfärbt sich die Lösung. Eine Probe der Lösung, mit Kalilauge und Zyankalium gekocht, wird purpurrot, desgleichen mit alkalischer Zinnchlorürlösung.

Wertvolle Dienste bei der Trennung der Farbstoffe leistet die *Goppelsröder*sche Kapillaranalyse. Man digeriert nach *R. Kayser* 5 *g* Safran 24 Stunden lang mit 50 *cm*³ Wasser (Kochen ist zu vermeiden). In den Auszug hängt man 4—5 *cm* breite Streifen von Filtrierpapier. Nach etwa 6 Stunden sind bei Anwesenheit fremder Farbstoffe die Streifen in verschiedener Höhe verschieden gefärbt. Man schneidet die einzelnen gefärbten Stücke heraus, wäscht mit heißem Wasser aus, kapillarisiert die einzelnen Lösungen zur vollständigen Trennung der Farbstoffe nochmals und stellt endlich mit den wässerigen Lösungen Reaktionen an.[1] Noch besser gelingt die Trennung nach einer von *R. Kayser*[2] verbesserten Methode. Man behandelt einen wässerigen Safranauszug mit wenig Alkali in der Wärme und neutralisiert wieder; es scheidet sich das Krozetin, das durch Kalilauge aus dem Krozin, dem Farbstoff des Safrans, abgespalten wird, zum größten Teil aus. Die Lösung ist nur noch schwach gelb gefärbt von diesem Rest von Krozetin und gibt keine kapillaranalytische Reaktion mehr. Sind Teerfarbstoffe vorhanden, so bleiben diese bei der angegebenen Behandlung unverändert und können auf kapillaranalytischem Wege rein erhalten und getrennt werden.

5. Pfeffer.

Nach den allgemeinen Untersuchungsverfahren werden folgende Bestimmungen ausgeführt:

Feuchtigkeitsbestimmung,

Rohfaserbestimmung,

[1]) Bericht über die X. Versammlung der freien Vereinigung bayrischer Vertreter der angewandten Chemie in Augsburg. S. 100 (1891); ferner desgleichen über die XIII. Versammlung in Aschaffenburg. S. 25 (1894).

[2]) Forschungsberichte über Lebensmittel etc. Bd. 1. S. 430 (1894).

Stärke.
Stickstoff.
Alkoholisches und ätherisches Extrakt.
Asche und Sand.

a) Piperinbestimmung:

10—20 *g* feinst gepulverten Pfeffers werden mit starkem Äthylalkohol vollständig ausgezogen. Der Alkohol wird verdunstet; der Rückstand, welcher aus Piperin und Harz besteht, wird zur Entfernung des Harzes mit einer kalten Lösung von Natrium- oder Kaliumkarbonat behandelt und filtriert. Das ungelöste Piperin wird nochmals in Alkohol gelöst und nach dem Verdunsten das Lösungsmittel getrocknet und gewogen.

Das Harz kann man aus der alkalischen Lösung auch durch Salzsäure ausfällen, abfiltrieren und ebenfalls durch Lösen im Alkohol, Verdunsten des Lösungsmittels und Trocknen annähernd quantitativ bestimmen.

Eine bessere Methode ist von *Baur* und *Hilger*[1]) angegeben worden. Sie gehen zunächst in der Weise vor, daß sie getrockneten, fein gemahlenen Pfeffer mit absolutem Alkohol extrahieren, den Alkohol verdampfen und den Rückstand mit Äther warm ausziehen. Die Lösung wird in einen 500 *cm*³-Rundkolben gegeben und der Äther verdunstet. Der Rückstand wird mit 20 *cm*³ konzentrierter Salpetersäure (S = 1·4) versetzt und 2 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt. Nach Zusatz von Wasser und Kalilauge im Überschuß wird im Wasserdampfstrom etwa 2—3 Stunden destilliert, bis das Destillat keine alkalische Reaktion mehr besitzt. Vorgelegt werden 50—60 *cm*³ $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure; die überschüssige Schwefelsäure wird mit $^1/_{10}$-Normalkalilauge zurücktitriert. 1 *cm*³ $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure entspricht 0·0285 *g* Piperin. Bei dieser Behandlungsweise entsteht aus Piperin das Piperidin. Es ist nicht praktisch, die Richtigkeit des Ergebnisses durch eine Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* nachzuprüfen, da sich Pyridin, Chinolin und ihre Derivate dazu nicht eignen.

b) Bestimmung der Bleizahl nach *Busse*.[2])

5 *g* Pfeffer, welcher vorher fein gemahlen und gut getrocknet worden ist, werden mit absolutem Alkohol 5 Stunden extrahiert und dann getrocknet. Das trockene Pfefferpulver wird in einer Schale mit kaltem Wasser zu Brei gerieben und dann mit 50—60 *cm*³ kochenden Wassers in einen 200 *cm*³-Kolben gespült. Man setzt 25 *cm*³ Natronlauge (10%) hinzu und digeriert 5 Stunden im Wasserbade. Darauf wird mit konzentrierter Essigsäure bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzt, mit Wasser auf 250 *cm*³ aufgefüllt und absitzen gelassen.

Zu 50 *cm*³ des Filtrates wird soviel konzentrierte Essigsäure gegeben, daß die Reaktion deutlich sauer ist. Darauf werden 20 *cm*³ einer 10%igen

---

[1]) Forschungsberichte über Lebensmittel etc. Bd. 3. S. 113 (1896).
[2]) Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. S. 509 (1894).

Bleiazetatlösung zugesetzt, schließlich wird mit Wasser auf 100 cm^3 aufgefüllt, gut umgeschüttelt und filtriert. 10 cm^3 des Fitrates werden in ein Becherglas gebracht, welches 5 cm^3 verdünnte Schwefelsäure (1 + 3) enthält, und zur Mischung 30 cm^3 absoluten Alkohols zugefügt. Man läßt absetzen, filtriert und wascht den Rückstand mit 80%igem Alkohol aus. Das Bleisulfat wird in der üblichen Weise durch Veraschen des Filters und vorsichtiges Glühen im Porzellantiegel bestimmt und durch Multiplizieren mit dem Faktor 0·6822 auf Blei (Pb) umgerechnet.

In der gleichen Weise wird durch Fällen mit Alkohol und Schwefelsäure der Bleigehalt der ursprünglichen Bleiazetatlösung bestimmt. Die Differenz dieser und der beim Pfeffer gefundenen Menge wird durch Multiplizieren mit 10 auf 1 *g* Pfeffer umgerechnet und ist die sogenannte Bleizahl.

6. Senfmehl.

Für die Beurteilung kann außer den Bestimmungen der Stärke, des Stickstoffes, des Fettes und der Asche, welche nach den allgemeinen Untersuchungsmethoden, S. 250 und folgende, ausgeführt werden, auch die Bestimmung des Senföles wichtig sein, wovon der schwarze Senfsamen 0·6 bis 1·0%, der weiße Senfsamen 0·1—0·2% bildet.

Nach *Schlicht*[1]) wird das Senföl in folgender Weise bestimmt:

20 oder 25 *g* des feingepulverten Senfsamens werden in einem Glaskolben mit warmem Wasser zu Brei gerührt; der Kolben wird mit einem doppelt durchbohrten, luftdicht schließenden Korkstopfen verschlossen, durch dessen eine Öffnung eine gebogene Glasröhre geht, welche bis unter den Pfropfen reicht und mit einem *Liebig*schen Kühler luftdicht verbunden ist. Nach Verlauf einer halben Stunde wird durch ein zweites Glasrohr, welches bis auf den Boden des Kolbens reicht, Wasserdampf eingeleitet. Das Destillat wird in einer mit dem Kühler durch Korkpfropfen verbundenen Vorlage (Kolben oder *Peligot*sche Röhre) von etwa 300 cm^3 Inhalt aufgefangen, welche mit 50 cm^3 einer gesättigten Lösung von Kaliumpermanganat — nämlich etwa 20mal so viel, als Senföl angenommen werden kann — und 1/4 des Kaliumpermanganats an Kalihydrat beschickt ist. Nachdem ungefähr 150—200 cm^3 überdestilliert sind, wird das Destillat kräftig durchgeschüttelt, erwärmt und das überschüssige Kaliumpermanganat mit reinem Alkohol — 25 cm^3 reduzieren 5 *g* Permanganat — reduziert. Das Ganze wird auf ein bestimmtes Volumen gebracht und durch ein trockenes Filter filtriert. In einem aliquoten Teil — etwa der Hälfte — wird die Schwefelsäure bestimmt. Da jedoch das bei der Oxydation des Alkohols entstehende Aldehyd Kaliumsulfat reduzieren kann, so setzt man nach Ansäuren mit Salzsäure vor der Fällung etwas Jod hinzu und fällt dann erst die Schwefelsäure mit Chlorbaryum. Aus dem gefundenen Baryumsulfat ergibt sich durch Multiplizieren mit 0·4249 der Gehalt an Senföl.

[1]) Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 30. S. 661 (1891).

Zur Bestimmung des Senföles eignet sich noch besser, mit Berücksichtigung der Arbeiten von *Gadamer*, folgender Weg:

Etwa 5 *g* gepulverten Senfsamens werden mit 100 *cm*³ Wasser bei 20—25° mindestens 2 Stunden in einem verschlossenen Kolben stehen gelassen und hierauf, nach Zusatz von 10 *cm*³ Alkohol und 5 *g* Olivenöl, der Destillation unterworfen, wobei 50 *cm*³ des Destillats in 25 *cm*³ Ammoniak eingeleitet werden. Diese Mischung wird auf 100 *cm*³ verdünnt und mit überschüssigem Silbernitrat versetzt. Das ausgeschiedene Schwefelsilber wird gewogen und dient zur Berechnung des Senfölgehaltes ($Ag_2S \times$ 0·4938 = Senföl). Oder man vermischt das ammoniakalische Destillat mit $^1/_{10}$-Normalsilberlösung im Überschuß und bestimmt das nicht verbrauchte Silbernitrat nach dem Ansäuern mit Salpetersäure volumetrisch mit Rhodanammonium.

Essig.

Essig[1] (Gärungsessig) ist das durch die sogenannte Essiggärung aus alkoholhaltigen Flüssigkeiten gewonnene Erzeugnis mit einem Gehalt von mindestens 3·5 *g* Essigsäure in 100 *cm*³.

Essigessenz ist gereinigte wässerige, auch mit Aromastoffen versetzte Essigsäure mit einem Gehalt von etwa 60—80 *g* Essigsäure in 100 *g*.

Essenzessig ist verdünnte Essigessenz mit einem Gehalt von mindestens 3·5 *g* und höchstens 15 *g* Essigsäure in 100 *cm*³.

Kunstessig ist mit künstlichen Aromastoffen versetzter oder mit gereinigter Essigsäure (auch Essenzessig oder Essigessenz) vermischter Essig mit einem Gehalt von mindestens 3·5 *g* und höchstens 15 *g* Essigsäure in 100 *cm*³.

Als Essigsorten werden unterschieden:

1. nach den Rohstoffen des Essigs oder der Essigmaische: Branntweinessig (Spritessig, Essigsprit), Weinessig (Traubenessig), Obstweinessig, Bieressig, Malzessig, Stärkezuckeressig, Honigessig u. a.;

2. nach dem Gehalte an Essigsäure: Speise- oder Tafelessig mit mindestens 3·5 *g* Essigsäure, Einmacheessig mit mindestens 5 *g* Essigsäure, Doppelessig mit mindestens 7 *g* Essigsäure und Essigsprit oder dreifacher Essig mit mindestens 10·5 *g* Essigsäure in 100 *cm*³.

Kräuteressig (z. B. Estragonessig), Fruchtessig (z. B. Himbeeressig), Gewürzessig und ähnlich bezeichnete Essigsorten sind durch Ausziehen von aromatischen Pflanzenteilen mit Essig hergestellte Erzeugnisse.

Chemische Untersuchung.

Die ermittelten Werte werden bei Essig als Gramm in 100 *cm*³ Essig, bei Essigessenz als Gramm in 100 *g* Essenz ausgedrückt.

1. Bestimmung des Säuregehaltes.

Von farblosem oder nur schwach gelb gefärbtem Essig wird die Säure in 20 *cm*³ nach Zusatz einiger Tropfen alkoholischer Phenolphtalein-

[1] Nach „Vereinbarungen" und „Entwürfen" des Kaiserl. Gesundheitsamtes. Jul. Springer. 1912.

lösung mit Normalalkalilauge titriert. Bei stärker gefärbtem Essig wird der Sättigungspunkt mit empfindlichem, violettem Lackmuspapier festgestellt, und zwar ist dieser Punkt erreicht, wenn ein Tropfen auf dem Papier keine Rötung mehr hervorruft. Die Säure des Essigs ist auf Essigsäure ($C_2H_4O_2$) zu berechnen (1 *cm*³ Normallauge entspricht 0·06 *g* Essigsäure).

Brode und *Lange*[1] fanden, daß mit Lackmuspapier als Indikator im allgemeinen 1% des relativen Wertes weniger gefunden wird als mit Phenolphtalein; es ist deshalb besser, die Titration bis zur deutlichen Blaufärbung des Lackmuspapieres fortzusetzen.

2. Qualitative Prüfung auf freie Mineralsäuren. (Nachweis von freier Schwefelsäure und Salzsäure.)

20—25 *cm*³ des auf etwa 2% Essigsäuregehalt verdünnten Essigs werden mit 4—5 Tropfen Methylviolettlösung (0·1%) versetzt. Das Auftreten einer Grün- oder Blaufärbung zeigt Mineralsäuren an. Der Vergleich mit einer mineralsäurehaltigen Essigprobe ist empfehlenswert.

Ein weiteres brauchbares Verfahren gibt *Schidrowitz*[2] an, welcher davon ausgeht, daß im Essig durch Zusatz von gleichen Teilen Alkohol die Dissoziation der Essigsäure so zurückgedrängt ist, daß Methylorange rein gelb erscheint. Sobald aber eine starke Säure vorhanden ist, ist sie rotgelb. Selbst bei stark gefärbten Essigen läßt sich ein Säurezusatz bis zu einer Konzentration von fast 1/100-Normal noch durch Tüpfeln auf Methylorangepapier (0·1% Lösung) erkennen (Filtrierpapier). Als maßgebend ist dabei die Farbe anzusehen, die erhalten wird, sobald die alkoholische Lösung auf das Papier gebracht worden ist. Beim Verdunsten des Alkohols ändert sich die Farbe ziemlich rasch.

3. Quantitative Bestimmung der freien Mineralsäuren nach *A. Hilger*.[3]

20 *cm*³ Essig werden mit Normalkalilauge genau neutralisiert, wobei der Sättigungspunkt durch Tüpfeln auf empfindlichem, violettem Lackmuspapier ermittelt wird. Die neutralisierte Flüssigkeit wird in einer Porzellanschale auf etwa den zehnten Teil eingedampft und mit einigen Tropfen der oben erwähnten Methylviolettlösung versetzt. Wenn nötig, wird bis auf etwa 3—4 *cm*³ mit Wasser verdünnt, dann wird zum Sieden erhitzt und heiß mit Normalschwefelsäure bis zum Farbenübergange titriert. Die verbrauchten Kubikzentimeter Normalschwefelsäure werden von den verbrauchten Kubikzentimeter Normalalkali abgezogen und die Differenz auf die entsprechende Säure umgerechnet. 1 *cm*³ Normalalkali entspricht 0·049 *cm*³ Schwefelsäure (H_2SO_4).

4. Prüfung auf Schwermetalle (Kupfer, Blei, Zinn, Zink).

200—500 *cm*³ Essig werden verdampft, der Rückstand wird bei extraktreichen Sorten unter Zusatz von etwas Soda und Salpeter verascht

[1] Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.

[2] The Analyst. Vol. 28. p. 233 (1903).

[3] Arch. f. Hygiene. Bd. 8. S. 448 (1888).

und die Asche vorsichtig in Salzsäure aufgelöst. In der salzsauren Lösung erfolgt der Nachweis und die Bestimmung der Schwermetalle nach den Regeln der Mineralanalyse.

5. Prüfung auf scharf schmeckende Stoffe.

Der genau neutralisierte Essig wird zur Trockene verdampft und auf Geschmack geprüft; alsdann wird mit Äther ausgezogen und der nach dem Verdunsten des Äthers verbleibende Rückstand ebenfalls auf Geschmack geprüft. Die Feststellung der Natur der scharf schmeckenden Stoffe auf chemischem Wege ist meist unmöglich.

6. Prüfung auf Farbstoffe.

Die Färbung des Essigs erfolgt gewöhnlich mit gleichen Farbstoffen, wie die des Weines. Der Nachweis erfolgt daher in gleicher Weise wie beim Wein. (Siehe dort.)

7. Bestimmung der Oxalsäure.

Die Oxalsäure wird in einer gemessenen Menge Essig durch Gipslösung nachgewiesen und bestimmt.

8. Bestimmung des Alkohols.

Von 500 *cm*³ neutralisierten Essigs werden 200 *cm*³ abdestilliert. Von dem Destillat werden wieder nahezu 100 *cm*³ abdestilliert und in diesem Destillate wird der Alkohol nach dem Auffüllen auf 100 *cm*³ in der üblichen Weise durch Ermittlung des spezifischen Gewichtes bei 15° bestimmt. Eine qualitative Prüfung auf Alkohol mittelst der Jodoformreaktion ist empfehlenswert.

Zur Prüfung auf Methylalkohol werden von 10 *cm*³ Essig oder 10fach verdünnter Essigessenz, die mit Kalilauge nahezu neutralisiert worden sind, 2 *cm*³ langsam abdestilliert. Das Destillat wird mit $^1/_2$ *cm*³ verdünnter (etwa 16%iger) Schwefelsäure und tropfenweise mit 3%iger Kaliumpermanganatlösung versetzt, bis es auch nach etwa 2 Minuten langem Schütteln noch stark violett oder — bei Abscheidung von Manganoxyden — rot gefärbt erscheint. Die Flüssigkeit wird dann durch wenige Tropfen gesättigter Oxalsäurelösung und Erwärmen auf 40° entfärbt und nunmehr mit Milch und eisenhaltiger Salzsäure in der S. 176 angegebenen Weise auf Formaldehyd geprüft. Waren mehr als Spuren von Methylalkohol vorhanden, so färbt sich die Flüssigkeit während des Kochens tiefviolett.

War von vornherein Formaldehyd vorhanden, so ist das Prüfungsverfahren nicht anwendbar.

9. Bestimmung und Untersuchung der Asche.

Der aus 50 *cm*³ Essig erhaltene Trockenrückstand wird entweder für sich oder, falls er sehr erheblich ist, nach Zusatz von etwa 2 *cm*³ aschefreien Glyzerins in der Platinschale mit kleiner Flamme verkohlt. Die Kohle wird wiederholt mit kleinen Mengen heißen Wassers ausgezogen, der wässerige Auszug durch ein kleines Filter von bekanntem Aschengehalt filtriert und das Filter samt der Kohle in der Schale mit möglichst

kleiner Flamme verascht. Dann wird das Filtrat in die Schale zurückgebracht, zur Trockene verdampft: der Rückstand wird ganz schwach geglüht und nach dem Erkalten im Exsikkator gewogen.

Die Asche wird mit überschüssiger $^1/_{10}$-Normalsalzsäure und Wasser in ein Kölbchen aus Jenaer Geräteglas gespült; das mit einem Uhrglase bedeckte Kölbchen wird eine Stunde lang auf dem siedenden Wasserbad erwärmt, und die erkaltete Lösung wird nach Zusatz von einem Tropfen Methylorange- und wenigen Tropfen Phenolphtaleïnlösung mit $^1/_{10}$-Normalalkalilauge bis zum Umschlag des Methylorange titriert. Darauf setzt man 10 *cm*³ etwa 40%ige neutrale Chlorkalziumlösung hinzu und titriert weiter bis zur Rötung des Phenolphtaleïns.

Die zur Neutralisation gegen Methylorange verbrauchten Milligrammäquivalente Säure (= Kubikzentimeter Normalsäure) ergeben die Alkalität der Asche; die vom Umschlag des Methylorange bis zum Umschlag des Phenolphtaleïns verbrauchten Milligrammäquivalente Alkali (= Kubikzentimeter Normallauge) ergeben mit 47·52 multipliziert die in der Asche enthaltenen Milligramm Phosphatrest (PO_4).

10. Prüfung auf Azeton.

Von 100 *cm*³ Essenzessig oder Kunstessig oder zehnfach verdünnter Essigessenz, die bis zur schwach alkalischen Reaktion mit Alkalilauge versetzt worden sind, werden 5 *cm*³ abdestilliert. Das Destillat wird mit 1 *cm*³ einer frisch bereiteten etwa 1%igen wässerigen Lösung von Nitroprussidnatrium vermischt, mit Natronlauge alkalisch gemacht und schließlich mit Essigsäure angesäuert.

Bei Abwesenheit von Azeton entsteht durch Natronlauge eine helle zitronengelbe Färbung, die beim Ansäuern mit Essigsäure verschwindet. Bei Gegenwart von Azeton entsteht durch Natronlauge eine rötlichbraune Färbung, die beim Ansäuern mit Essigsäure in Violett übergeht. Der Farbenumschlag ist gegen einen weißen Hintergrund zu beobachten.

11. Nachweis und Bestimmung von Konservierungsmitteln.

a) Zur Prüfung auf Salizylsäure versetzt man 50 *cm*³ Essig mit einigen Tropfen Schwefelsäure und schüttelt mit gleichen Teilen Äther und Petroläther aus. Der Äther wird abgehoben und zweimal mit Wasser ausgewaschen; schließlich wird der Äther in einem Kölbchen unter Durchleiten von Luft auf dem Wasserbade verdunstet. Der Rückstand wird mit Eisenchlorid auf Salizylsäure geprüft. Falls diese vorhanden ist, kann sie auch kolorimetrisch auf diese Weise quantitativ bestimmt werden (*Brode* und *Lange* l. c.).

b) Prüfung auf Benzoësäure.

50 *cm*³ Essig oder zehnfach verdünnte Essigessenz werden zunächst wie bei der Prüfung auf Salizylsäure behandelt; der ätherische, mit Wasser gewaschene Auszug wird in einer Schale bis auf etwa 5 *cm*³ und dann auf einem Uhrglase von etwa 6 *cm* Durchmesser vorsichtig zur Trockene verdunstet. Das Uhrglas wird mit einem zweiten Uhrglase von gleicher Größe

bedeckt und zwischen beide ein Stück Filtrierpapier, das die Ränder der Uhrgläser allseitig überragt, gelegt. Das untere Glas wird ziemlich schnell, aber vorsichtig mit einer sehr kleinen Flamme erhitzt: bei Gegenwart von Benzoësäure setzt sich diese in feinen weißen Kriställchen an dem oberen Glase ab. Das Sublimat wird mit einigen Tropfen Ammoniaklösung aufgenommen, und in dem Uhrglase auf dem Wasserbade zur Trockene verdampft, der Rückstand in wenigen Tropfen Wasser gelöst und tropfenweise mit einer 0·5%igen Eisenchloridlösung versetzt. Bei Gegenwart von Benzoësäure entsteht ein fleischfarbener Niederschlag. (Siehe auch S. 164.)

c) Um Borsäure nachzuweisen, wird der Essig alkalisch gemacht, eingedampft, der Rückstand verascht und die Asche mit Curcuminpapier geprüft. (Siehe auch S. 159.)

d) Formaldehyd scheidet man entweder durch Destillation ab oder weist es im Essig selbst nach, wie auf S. 160 angegeben ist.

e) Schweflige Säure wird in 20 cm^3 Essig mit Kaliumjodatstärkepapier wie im Fleisch (S. 161) nachgewiesen.

f) Prüfung auf Ameisensäure. Von 100 cm^3 Essig oder zehnfach verdünnter Essigessenz werden nach Zusatz von 10 *g* Kochsalz und 0·5 *g* Weinsäure etwa 75 cm^3 abdestilliert. Das Destillat wird mit etwa 10 cm^3 Normalalkali alkalisch gemacht und auf dem Wasserbade zur Trockene verdampft. Der Rückstand wird, wenn die Prüfung auf Formaldehyd positiv ausgefallen war, nach einstündigem Erhitzen auf 130°, im anderen Falle ohne weiteres, mit 10 cm^3 Wasser und 5 cm^3 Salzsäure vom spez. Gew. 1·124 aufgenommen und die Lösung in einem kleinen, mit einem Uhrglase bedeckten Kölbchen nach und nach mit 0·5 *g* Magnesiumspänen versetzt. Nach zweistündiger Einwirkung des Magnesiums werden 5 cm^3 der Lösung in ein geräumiges Probierglas abgegossen und in der angegebenen Weise mit Milch und eisenhaltiger Salzsäure auf Formaldehyd geprüft. Färbt sich hierbei die Flüssigkeit oder wenigstens das unmittelbar nach Beendigung des Kochens sich abscheidende Eiweiß deutlich violett, so ist der Nachweis von Ameisensäure erbracht.

Zur quantitativen Bestimmung der Ameisensäure werden 100 cm^3 Essig oder 100 *g* der auf das zehnfache Gewicht verdünnten Essigessenz in einem langhalsigen Destillierkolben von etwa 500 cm^3 Inhalt mit 0·5 *g* Weinsäure versetzt. Durch den Gummistopfen des Kolbens führt ein unten verengtes Dampfeinleitungsrohr und ein gut wirkender Destillationsaufsatz, der durch doppelt gebogene Glasröhren in einen zweiten, gleich großen und gleich geformten Kolben hineinragt. Dieser enthält in 100 cm^3 Wasser so viel reines Kalziumkarbonat aufgeschwemmt, daß es die zur Bindung der gesamten Essigsäure erforderliche Menge um etwa 2 *g* überschreitet. Das in den zweiten Kolben führende Einleitungsrohr ist zum wirksamen Aufrühren unten zugeschmolzen und dicht darüber mit vier horizontalen etwas gebogenen Auspuffröhrchen von enger Öffnung versehen. Der Kolben trägt ebenfalls einen gut wirkenden Destillationsaufsatz, der durch einen absteigenden Kühler zu einer geräumigen Vorlage führt.

Nachdem die Kalziumkarbonataufschwemmung zum schwachen Sieden erhitzt ist, wird durch den Essig ein Wasserdampfstrom geleitet und so geregelt, daß die Aufschwemmung nicht zu heftig schäumt; gleichzeitig wird der Essig erhitzt, so daß sein Volumen allmählich auf etwa ein Drittel verringert wird. Wenn etwa 750 cm^3 überdestilliert sind, unterbricht man die Destillation und filtriert die Aufschwemmung heiß, wäscht das Kalziumkarbonat mit heißem Wasser aus und dampft das Filtrat auf dem Wasserbade zur Trockene ein. Der Rückstand wird im Lufttrockenschrank eine Stunde lang auf 125—130° erhitzt, in etwa 100 cm^3 Wasser gelöst und zweimal mit 25 cm^3 reinem Äther ausgeschüttelt. Nachdem man die wässerige Lösung auf dem Wasserbade vom Äther befreit hat, bringt man sie in einen *Erlenmeyer*-Kolben, gibt 2 *g* reines kristallisiertes Natriumazetat, einige Tropfen Salzsäure bis zur schwach sauren Reaktion und 40 cm^3 5%ige Quecksilberchloridlösung hinzu und erhitzt zwei Stunden lang im siedenden Wasserbade; hierbei wird der Kolben mit einem Kühlrohr versehen und muß bis an den Hals eintauchen. Das ausgeschiedene Kalomel wird unter wiederholtem Dekantieren mit warmem Wasser auf ein Platinfilter gebracht, gut ausgewaschen, mit Alkohol und Äther nachgewaschen, im Dampftrockenschrank bis zur Gewichtskonstanz — etwa 1 Stunde — getrocknet und gewogen.

Durch Erhitzen des wässerigen Filtrates mit weiteren 5 cm^3 Quecksilberchloridlösung überzeugt man sich, daß ein Überschuß vorhanden war.

Die gefundene Menge Kalomel, mit 0·0975 multipliziert, ergibt die in 100 cm^3 Essig oder in 10 *g* Essigessenz enthaltene Menge Ameisensäure.

Enthielt der Essig schweflige Säure, so wird das auf etwa 100 cm^3 eingeengte Filtrat von der Kalziumkarbonataufschwemmung mit 1 cm^3 Normalalkalilauge und 5 cm^3 3%iger Wasserstoffsuperoxydlösung versetzt. Nach vierstündiger Einwirkung bei Zimmertemperatur wird das überschüssige Wasserstoffsuperoxyd durch eine kleine Menge frisch gefällten oder feucht aufbewahrten Quecksilberoxyds[1]) zerstört. Die angewandte Menge Quecksilberoxyd war ausreichend, wenn nach Beendigung der Gasentwicklung der Bodensatz noch stellenweise rot erscheint. Nach einer halben Stunde wird vom Quecksilber und Quecksilberoxyd durch ein kleines Filter abgegossen, gut ausgewaschen und das Filtrat in der oben angegebenen Weise weiterbehandelt.

Enthielt der Essig Salizylsäure, so werden vor dem Erhitzen mit Quecksilberchlorid 2 *g* Natriumchlorid hinzugefügt.

12. Prüfung auf Pyridin.

Von 50 cm^3 Essig, die bis zur stark alkalischen Reaktion mit Alkalilauge versetzt worden sind, werden 20 cm^3 abdestilliert. Das Destillat wird

[1]) Das Quecksilberoxyd ist in der Siedehitze durch Eingießen von Quecksilberchloridlösung in überschüssige reine Natronlauge zu bereiten, durch Dekantieren mit heißem Wasser gut auszuwaschen, auf einem Filter zu sammeln und als feuchte Paste aufzubewahren und zu verwenden.

mit je 5 Tropfen verdünnter (etwa 16%iger) Schwefelsäure und Wismutjodid-Jodkaliumlösung[1]) versetzt. Bei Gegenwart von Pyridin entsteht eine rote Ausscheidung.

13. Prüfung auf Phenole.

20 cm^3 Essigessenz oder Kunstessig oder zehnfach verdünnte Essigessenz werden mit 20 cm^3 Äther ausgeschüttelt. Der Äther wird auf dem Wasserbade verdampft, der Rückstand in 5 cm^3 Wasser gelöst und diese Lösung in einem Probierglase mit 2 cm^3 gesättigtem Bromwasser versetzt. Eine oft erst nach einigen Stunden eintretende Trübung oder ein Niederschlag zeigt die Anwesenheit von Phenolen an.

Zucker und Zuckerwaren.

Von den verschiedenen Zuckerarten kommen in den Nahrungsmitteln hauptsächlich Saccharose, Glukose, Lävulose, Maltose und Milchzucker vor. Der gebräuchlichste Zucker ist die Saccharose, welche im Zuckerrohr, in Rüben, im Ahorn und in Palmen als Hauptbestandteil vorkommt. Im großen wird Zucker nur aus Zuckerrohr und Rüben dargestellt. Glukose und Maltose befinden sich neben Dextrin im Stärkezucker. Milchzucker kommt in der Milch und auch sonst in Gemengen mit anderen Zuckerarten vor.

1. Zucker.

1. Zuckerbestimmung in der Raffinade.

Man verfährt nach der Anlage *C* (S. 257).

2. Zuckerbestimmung im Rohzucker.

Sie erfolgt durch Polarisation nach Anlage *C*.

3. Zuckerbestimmung im Sirup und Melassen.

Man verfährt nach Anlage *A* unter Anwendung des halben Normalgewichtes (S. 248).

4. Bestimmung von Rohrzucker neben Raffinose.

Man verfährt nach Anlage *B* (S. 255), jedoch nur für den Fall, daß weniger als 2% Invertzucker vorhanden ist. Bei mehr als 2% Invertzucker kann man nach dem Verfahren von *Baumann*[2]) arbeiten, aber es ist zu beachten, daß kein Stärkezucker zugegen sein darf. Ein einfaches analytisches Unterscheidungsmerkmal für Stärkezucker und Raffinose gibt es noch nicht.

---

[1]) Zur Darstellung der Wismutjodid-Jodkaliumlösung löst man 8 *g* basisches Wismutnitrat in 20 cm^3 Salpetersäure vom spez. Gew. 1·18 sowie 27·2 *g* Jodkalium in möglichst wenig Wasser und gießt die Wismutlösung langsam unter Umschütteln in die Jodkaliumlösung, wobei sich der anfangs entstehende braune Niederschlag wieder auflöst. Durch starkes Abkühlen läßt man möglichst viel Kaliumnitrat auskristallisieren, trennt die Lösung davon und verdünnt sie mit Wasser zu 100 cm^3. Die Lösung ist vor Licht geschützt aufzubewahren.

[2]) Zeitschr. d. Ver. d. deutschen Zuckerind. S. 779 (1898).

5. Bestimmung von Rohrzucker neben Stärkezucker.

Von beiden kann nur Rohrzucker bestimmt werden, und zwar nach Anlage *B* nach der *Clerget-Herzfeld*schen Vorschrift. Für die Berechnung dient die Formel:

$$\text{Zucker} = \frac{100 \cdot S}{142{\cdot}66 - \frac{t}{2}},$$

wo S die *Clerget*sche Summe von Rechts- und Linksdrehung bedeutet. Die Ergebnisse dieses Verfahrens sind nicht ganz genau, weil auch der Stärkezucker bei der Inversion angegriffen wird. Die Ermittlung von Invertzucker oder Raffinose neben Saccharose bei gleichzeitiger Anwesenheit von Stärkezucker ist noch nicht möglich.

Der Stärkezucker kann übrigens auch durch Vergärung bestimmt werden.

6. Bestimmung des Wassergehaltes.

Saccharose, Milchzucker, Maltose, Raffinose können bei 105 bis 110° (Trocknen bei 100° genügt nicht) getrocknet werden; man verwendet hierzu 10 *g* Substanz. Invertzucker und Glukose sind bei höherer Temperatur leicht zersetzlich und spalten Wasser aus dem Molekül ab. Rübenrohzucker und Sirupe sind in der Regel frei von Invertzucker, während Kolonialerzeugnisse aus Zuckerrohr oft große Mengen enthalten. Eine genaue Wasserbestimmung ist deshalb bei Gegenwart von Invertzucker nicht möglich, auf den vorher stets zu prüfen ist. Man begnügt sich in diesem Fall mit der scheinbaren Wasserbestimmung unter Benutzung der *Brix*-Spindeln.

Zur Wasserbestimmung in Sirup und Melassen werden 2—3 *g* mit ausgeglühtem Sand in großem Überschuß gemischt und bei 105—110° getrocknet.

7. Bestimmung der Asche.

Der Zucker wird getrocknet, mit konzentrierter Schwefelsäure durchfeuchtet, erhitzt und schließlich im Muffelofen weiß gebrannt. Von dem Resultat ist nach Vorschlag von *Scheibler* $^1/_{10}$ abzuziehen.

Bei der Rohzuckeranalyse versteht man unter Rendement die Zahl, welche man erhält, wenn man die 5fache Menge Asche von dem polarisierten Zuckergehalt abzieht. Man nimmt dabei an, daß dieser Wert die Ausbeute an weißem Zucker angibt, welchen die Raffinerien aus dem Rohzucker erhalten.

Zur Aschenbestimmung nimmt man 10 *g* Raffinade, dagegen nur 3 *g* Rohzucker, Sirup oder Melasse.

8. Bestimmung des spezifischen Gewichtes von Sirupen und Melassen.

Sie erfolgt nach der Anlage *A* der Ausführungsbestimmungen (S. 248). Wenn man das spezifische Gewicht des unverdünnten Sirups wissen will, so wird es direkt im Pyknometer ermittelt und in *Brix*-Grade umgerechnet.

9. Nachweis von mineralischen Beimengungen und Stärke.

Sie bleiben nach dem Auflösen des Zuckers als ungelöster Rückstand oder sie finden sich in der Asche oder ergeben sich aus der niedrigen Polarisation.

10. Die weitere Untersuchung von Zucker und Zuckersäften erfolgt nach den folgenden Untersuchungsverfahren. Es ist hierbei von einem sogenannten Quotienten die Rede: darunter versteht man diejenige Zahl, welche angibt, wieviel Prozente Zucker in der Trockensubstanz enthalten sind. Mit der *Brix*-Spindel oder besser aus dem spezifischen Gewicht bestimmt man zunächst nach Tafel II, wieviel *Brix*-Grade oder Zuckerprozente der Saft enthält. Da auch noch andere Stoffe vorhanden sind, so findet man vorläufig nur den scheinbaren Zuckergehalt oder besser den Gehalt an gelösten Stoffen. Den Zucker selbst bestimmt man besonders nach verschiedenen Verfahren. Rechnet man diesen auf 100 *g* Trockensubstanz um, so hat man den Reinheitsquotienten, welcher um so höher sein wird, je größer der Zuckergehalt und je besser der Saft ist.

Zur Bestimmung des Zuckers kommen verschiedene Verfahren zur Anwendung.

Sind weniger als 2% Invertzucker vorhanden, so wird mit Bleiessig geklärt und die Polarisation ergibt den Zuckergehalt (Anlage A).

Ist neben Rohrzucker mehr als 2% Invertzucker vorhanden, so wird invertiert und der Zucker gewichtsanalytisch bestimmt. Dieser wird auf Rohrzucker umgerechnet. Anlage B, 1.

Ist neben Rohrzucker auch Stärkezucker zugegen, so verfährt man ebenfalls nach Anlage B, 1.

Sind außer Rohrzucker noch Raffinose und weniger als 2% Invertzucker zugegen, so wird die Zuckerlösung vor und nach der Inversion polarisiert. Sind P und J die Polarisationsgrade, so ist der Zuckergehalt

$$Z = \frac{0·5124 . P - J}{0·839}$$

und der Raffinosegehalt

$$R = \frac{P - Z}{1·572}.$$

Enthält ein Zuckersaft mehr als 2% Invertzucker und ist auch Raffinose zu berücksichtigen, so wird zunächst wieder invertiert und gewichtsanalytisch das reduzierte Kupfer bestimmt, außerdem wird die invertierte Lösung noch polarisiert. Der Gesamtzucker wird dann nach der Formel

$$Z = \frac{582·98\ Cu - J . F_2}{0·9491\ F_1 + 0·3266\ F_2}$$

berechnet. F_1 und F_2 sind Reduktionsfaktoren des invertierten Rohrzuckers und der invertierten Raffinose.

2. Zucker und zuckerhaltige Waren.

(Rübenzucker, Sirup, Melasse, Schokolade und andere kakaohaltige Waren, Bonbons, Dragees, Raffinadezeltchen, Schaumwaren, Dessertbonbons, Marzipanmasse, Kakes und ähnliche Backwaren, eingedickte Milch.[1])

[1]) Nach den Ausführungsbestimmungen zum Zuckersteuergesetz vom 27. Mai 18[illegible] / 6. Jänner 1903.

Anlage A.

Anleitung für die Steuerstellen zur Untersuchung der Zuckerabläufe auf Invertzuckergehalt und Feststellung des Quotienten der weniger als 2 vom Hundert Invertzucker enthaltenden Zuckerabläufe.

Allgemeines.

Bei Beginn der Untersuchung ist zunächst eine Prüfung des Ablaufs nach dem unter 1 beschriebenen Verfahren auf den Gehalt an Invertzucker auszuführen. Sobald sich dieser Gehalt zu 2 vom Hundert oder mehr ergibt, erfolgt das weitere Verfahren nach § 2, Abs. 4, 5 der Ausführungsbestimmungen.

Ergibt die nachfolgend unter 2 beschriebene Untersuchung einen Quotienten von 70 oder mehr, so ist von der weiteren Prüfung des Ablaufs Abstand zu nehmen, falls nicht der Anmelder eine Untersuchung durch den Chemiker beantragt.

Die bei der Untersuchung der Abläufe zu verwendenden Gewichte, Meßgeräte und Spindeln müssen geeicht oder eichamtlich beglaubigt sein.

1. Untersuchung der Zuckerabläufe auf Invertzuckergehalt.

In einer Messing- oder Porzellanschale, deren Gewicht zu ermitteln ist, werden genau 10 g des nötigenfalls durch Anwärmen dünnflüssig gemachten Ablaufs abgewogen und durch Zusatz von etwa 50 cm^3 warmem Wasser und Umrühren mit einem Glasstab in Lösung gebracht. Die Lösung braucht, auch wenn sie getrübt erscheinen sollte, in der Regel nicht filtriert zu werden. Man bringt sie in einen sogenannten *Erlenmeyer*schen Kolben von etwa 200 cm^3 Raumgehalt und fügt 50 cm^3 *Fehling*sche Lösung hinzu.

Die *Fehling*sche Lösung erhält man durch Zusammengießen gleicher Teile von Kupfervitriollösung (34·6 g reiner kristallisierter Kupfervitriol, zu 500 cm^3 mit Wasser gelöst) und Seignettesalz-Natronlauge (173 g kristallisiertes Seignettesalz, zu 400 cm^3 mit Wasser gelöst; die Lösung vermischt mit 100 cm^3 einer Natronlauge, welche 500 g Natronhydrat im Liter enthält). Von jeder sind 25 cm^3 mittelst besonderer Pipette zu entnehmen und der Lösung des Zuckerablaufs unter Umschütteln zuzusetzen.

Die Mischung wird im Kochkolben auf einem Drahtnetz aufgekocht und 2 Minuten im Sieden erhalten. Die Zeit des Siedens darf nicht abgekürzt werden.

Hierauf entfernt man den Brenner, wartet einige Minuten, bis der Niederschlag sich abgesetzt hat, hält den Kolben gegen das Licht und beobachtet, ob die Flüssigkeit noch blau gefärbt ist. Ist noch Kupfer in der Lösung vorhanden, was durch die blaue Farbe angezeigt wird, so enthält die Lösung weniger als 2 vom Hundert Invertzucker, andernfalls sind 2 oder mehr vom Hundert dieses Zuckers vorhanden.

Die Färbung erkennt man deutlicher, wenn man ein Blatt weißes Schreibpapier hinter den Kolben hält und so beobachtet, daß das Licht durch die Flüssigkeit hindurch auf das Blatt Papier fällt.

Sollte die Flüssigkeit nach dem Kochen gelbgrün oder bräunlich erscheinen, so liegt die Möglichkeit vor, daß noch unzersetzte Kupferlösung vorhanden ist und ihre blaue Farbe nur durch die gelbbraune Farbe des Ablaufs verdeckt wird. In solchen Fällen ist wie folgt zu verfahren:

Man fertigt aus gutem, dickem Filtrierpapier ein kleines Filter, feuchtet es mit etwas Wasser an und setzt es in einen Glastrichter ein, wobei es am Rande des Trichters gut festgedrückt wird. Hierauf filtriert man etwa 10 *cm*³ der Flüssigkeit durch das Filter und setzt dem Filtrat ungefähr die gleiche Menge Essigsäure und einen oder zwei Tropfen einer wässerigen Lösung von gelbem Blutlaugensalz zu. Entsteht hierbei eine stark rote Färbung des Filtrats, so ist noch Kupfer in der Lösung und somit erwiesen, daß der Zuckerablauf weniger als 2 von Hundert Invertzucker enthält.

2. Bestimmung des Quotienten.

Als Quotient im Sinne der Vorschrift im § 1 der Ausführungsbestimmungen gilt diejenige Zahl, welche durch Teilung des hundertfachen Betrags der Polarisationsgrade des Ablaufs durch die Prozente *Brix* berechnet wird.

a) Ermittelung der Prozente *Brix*.

Man wägt in einem reinen Becherglase von etwa ½ Liter Rauminhalt einen hinlänglich langen Glasstab und 200 bis 300 *g* des Ablaufs auf 1 *g* genau ab. Nachdem man das Glas von der Wage heruntergenommen hat, fügt man etwa 150 *cm*³ heißes destilliertes Wasser hinzu, rührt mit dem Stabe so lange vorsichtig (um das Glas nicht zu zerstoßen) um, bis sich alles gelöst hat, stellt das Glas in kaltes Wasser, bis der Inhalt ungefähr die Zimmerwärme angenommen hat. Hierauf trocknet man das Glas sorgfältig ab, stellt es wieder auf die Wage und fügt noch so viel Wasser hinzu, daß sein Gewicht dem des Ablaufes gleich ist.

Dann rührt man die Flüssigkeit mit dem Glasstabe so lange gehörig um, bis sich auch nicht die geringste Schlierenbildung mehr zeigt. Der ursprüngliche Ablauf ist dann auf die Hälfte seines Gehalts an Zucker verdünnt.

Zum Zwecke der Spindelung wird ein Teil der Flüssigkeit in einen Glaszylinder gegeben. Die Spindelung selbst erfolgt mittelst der *Brix*schen Spindel nach den für die Spindelung von Branntwein, Mineralöl, Wein usw. bestehenden Regeln. Zu beachten ist, daß die Prozente auf Fünftelprozente, die Wärmegrade auf ganze Grade abzulesen sind.

Wenn die abgelesenen Wärmegrade nicht mit der Normaltemperatur (20° C) übereinstimmen, so sind die abgelesenen Prozente noch zu berichtigen. Zu ihrer Umrechnung dient die Tafel 1.[1] Sie enthält in der ersten mit „Wärmegrade“ überschriebenen Zeile die Temperaturen von 10 bis 29°.

---

[1] Ist nicht abgedruckt, da es leicht ist, die Lösung auf 20° zu temperieren. Dagegen ist nicht immer eine *Brix*-Spindel vorhanden und die Tabelle II dient dazu, das spezifische Gewicht in *Brix*-Prozente umzurechnen.

Tafel II zur Ermittlung der Prozente *Brix* aus der Dichte bei 20° C.

Prozente *Brix*	Zehntel-Prozente									
	,0	,1	,2	,3	,4	,5	,6	,7	,8	,9
	Dichte bei 20° C für die nebenstehenden ganzen Prozente und obenstehenden Zehntelprozente *Brix*.									
0	0·9982	0·9986	0·9990	0·9994	0·9998	1·0002	1·0006	1·0010	1·0013	1·0017
1	1·0021	1·0025	1·0029	1·0033	1·0037	1·0041	1·0045	1·0048	1·0052	1·0056
2	1·0060	1·0064	1·0068	1·0072	1·0076	1·0080	1·0084	1·0088	1·0091	1·0095
3	1·0099	1·0103	1·0107	1·0111	1·0115	1·0119	1·0123	1·0127	1·0131	1·0135
4	1·0139	1·0143	1·0147	1·0151	1·0155	1·0159	1·0163	1·0167	1·0171	1·0175
5	1·0179	1·0183	1·0187	1·0191	1·0195	1·0199	1·0203	1·0207	1·0211	1·0215
6	1·0219	1·0223	1·0227	1·0231	1·0235	1·0239	1·0243	1·0247	1·0251	1·0255
7	1·0259	1·0263	1·0267	1·0271	1·0275	1·0279	1·0283	1·0287	1·0291	1·0295
8	1·0299	1·0303	1·0308	1·0312	0·0316	1·0320	1·0324	1·0328	1·0332	1·0336
9	1·0340	1·0343	1·0349	1·0353	1·0347	1·0361	1·0365	1·0369	1·0373	1·0377
10	1·0381	1·0386	1·0390	1·0394	1·0398	1·0402	1·0406	1·0410	1·0415	1·0419
11	1·0423	1·0427	1·0431	1·0435	1·0440	1·0444	1·0448	1·0452	1·0456	1·0460
12	1·0465	1·0469	1·0473	1·0477	1·0481	1·0486	1·0490	1·0494	1·0498	1·0502
13	1·0507	1·0511	1·0515	1·0519	1·0524	1·0528	1·0532	1·0536	1·0541	1·0545
14	1·0549	1·0553	1·0558	1·0562	1·0566	1·0570	1·0575	1·0579	1·0583	1·0587
15	1·0592	1·0596	1·0600	1·0605	1·0609	1·0613	1·0617	1·0622	1·0626	1·0630
16	1·0635	1·0639	1·0643	1·0648	1·0652	1·0656	1·0661	1·0665	1·0669	1·0674
17	1·0678	1·0682	1·0687	1·0691	1·0695	1·0700	1·0704	1·0708	1·0713	1·0717
18	1·0721	1·0726	1·0730	1·0735	1·0739	1·0743	1·0748	1·0752	1·0757	1·0761
19	1·0765	1·0770	1·0774	1·0779	1·0783	1·0787	1·0792	1·0796	1·0801	1·0805
20	1·0810	1·0814	1·0818	1·0823	1·0827	1·0832	1·0836	1·0841	1·0845	1·0850
21	1·0854	1·0859	1·0863	1·0868	1·0872	1·0877	1·0881	1·0886	1·0890	1·0895

22	1·0899	1·0904	1·0908	1·0913	1·0917	1·0922	1·0926	1·0931	1·0935	1·0940
23	1·0944	1·0949	1·0953	1·0958	1·0962	1·0967	1·0971	1·0976	1·0981	1·0985
24	1·0990	1·0994	1·0999	1·1003	1·1008	1·1013	1·1017	1·1022	1·1026	1·1031
25	1·1036	1·1040	1·1045	1·1049	1·1054	1·1059	1·1063	1·1068	1·1072	1·1077
26	1·1082	1·1086	1·1091	1·1096	1·1100	1·1105	1·1110	1·1114	1·1119	1·1124
27	1·1128	1·1133	1·1138	1·1142	1·1147	1·1152	1·1156	1·1161	1·1166	1·1170
28	1·1175	1·1180	1·1185	1·1189	1·1194	1·1199	1·1203	1·1208	1·1213	1·1218
29	1·1222	1·1227	1·1232	1·1237	1·1241	1·1246	1·1251	1·1256	1·1260	1·1265
30	1·1270	1·1275	1·1279	1·1284	1·1289	1·1294	1·1299	1·1303	1·1308	1·1313
31	1·1318	1·1323	1·1327	1·1332	1·1337	1·1342	1·1347	1·1351	1·1356	1·1361
32	1·1366	1·1371	1·1376	1·1380	1·1385	1·1390	1·1395	1·1400	1·1405	1·1410
33	1·1415	1·1419	1·1424	1·1429	1·1434	1·1439	1·1444	1·1449	1·1454	1·1459
34	1·1463	1·1468	1·1473	1·1478	1·1483	1·1488	1·1493	1·1498	1·1503	1·1508
35	1·1513	1·1518	1·1523	1·1528	1·1533	1·1538	1·1542	1·1547	1·1552	1·1557
36	1·1562	1·1567	1·1572	1·1577	1·1582	1·1587	1·1592	1·1597	1·1602	1·1607
37	1·1612	1·1617	1·1622	1·1627	1·1632	1·1637	1·1642	1·1647	1·1653	1·1658
38	1·1663	1·1668	1·1673	1·1678	1·1683	1·1688	1·1693	1·1698	1·1703	1·1708
39	1·1713	1·1718	1·1724	1·1729	1·1734	1·1739	1·1744	1·1749	1·1754	1·1759
40	1·1764	1·1770	1·1775	1·1780	1·1785	1·1790	1·1795	1·1800	1·1806	1·1811
41	1·1816	1·1821	1·1826	1·1831	1·1837	1·1842	1·1847	1·1852	1·1857	1·1863
42	1·1868	1·1873	1·1878	1·1883	1·1888	1·1894	1·1899	1·1904	1·1909	1·1915
43	1·1920	1·1925	1·1931	1·1936	1·1941	1·1946	1·1951	1·1957	1·1962	1·1967
44	1·1972	1·1978	1·1983	1·1988	1·1994	1·1999	1·2004	1·2010	1·2015	1·2020
45	1·2025	1·2031	1·2036	1·2041	1·2047	1·2052	1·2057	1·2063	1·2068	1·2073
46	1·2079	1·2084	1·2089	1·2095	1·2100	1·2105	1·2111	1·2116	1·2122	1·2127
47	1·2132	1·2138	1·2143	1·2149	1·2154	1·2159	1·2165	1·2170	1·2176	1·2181
48	1·2186	1·2192	1·2197	1·2203	1·2208	1·2214	1·2219	1·2224	1·2230	1·2235
49	1·2241	1·2246	1·2252	1·2257	1·2263	1·2268	1·2274	1·2279	1·2285	1·2290

Prozente Brix	Zehntel-Prozente									
	,0	,1	,2	,3	,4	,5	,6	,7	,8	,9
50	1·2296	1·2301	1·2307	1·2312	1·2318	1·2323	1·2329	1·2334	1·2340	1·2345
51	1·2351	1·2356	1·2362	1·2367	1·2373	1·2379	1·2384	1·2390	1·2395	1·2401
52	1·2406	1·2412	1·2418	1·2423	1·2429	1·2434	1·2440	1·2446	1·2451	1·2457
53	1·2462	1·2468	1·2474	1·2479	1·2485	1·2490	1·2496	1·2502	1·2507	1·2513
54	1·2519	1·2524	1·2530	1·2536	1·2541	1·2547	1·2553	1·2558	1·2564	1·2570
55	1·2555	1·2581	1·2587	1·2592	1·2598	1·2604	1·2610	1·2615	1·2621	1·2627
56	1·2632	1·2638	1·2644	1·2650	2·2655	1·2661	1·2667	1·2673	1·2678	1·2684
57	1·2690	1·2696	1·2701	1·2707	1·2713	1·2719	1·2725	1·2730	1·2736	1·2742
58	1·2748	1·2754	1·2759	1·2765	1·2771	1·2777	1·2783	1·2788	1·2794	1·2800
59	1·2806	1·2812	1·2818	1·2824	1·2830	1·2835	1·2841	1·2847	1·2853	1·2859
60	1·2865	1·2870	1·2876	1·2882	1·2888	1·2894	1·2900	1·2906	1·2912	1·2918
61	1·2924	1·2929	1·2935	1·2941	1·2947	1·2953	1·2959	1·2965	1·2971	1·2977
62	1·2983	1·2989	1·2995	1·3001	1·3007	1·3013	1·3019	1·3025	1·3031	1·3037
63	1·3043	1·3049	1·3055	1·3061	1·3067	1·3073	1·3079	1·3085	1·3091	1·3097
64	1·3103	1·3109	1·3115	1·3121	1·3127	1·3133	1·3139	1·3145	1·3151	1·3157
65	1·3163	1·3169	1·3175	1·3182	1·3188	1·3194	1·3200	1·3206	1·3212	1·3218
66	1·3224	1·3230	1·3236	1·3243	1·3249	1·3255	1·3261	1·3267	1·3273	1·3279
67	1·3286	1·3292	1·3298	1·3304	1·3310	1·3316	1·3323	1·3329	1·3335	1·3341
68	1·3347	1·3353	1·3360	1·3366	1·3372	1·3378	1·3384	1·3391	1·3397	1·3403
69	1·3409	1·3416	1·3422	1·3428	1·3434	1·3440	1·3447	1·3453	1·3459	1·3465
70	1·3472	1·3478	1·3484	1·3491	1·3497	1·3503	1·3509	1·3516	1·3522	1·3528
71	1·3535	1·3541	1·3547	1·3553	1·3560	1·3566	1·3572	1·3579	1·3585	1·3591
72	1·3598	1·3604	1·3610	1·3617	1·3623	1·3630	1·3636	1·3642	1·3649	1·3655
73	1·3661	1·3668	1·3674	1·3681	1·3687	1·3693	1·3700	1·3706	1·3713	1·3719

74	1·3725	1·3732	1·3738	1·3745	1·3751	1·3757	1·3764	1·3770	1·3777	1·3783
75	1·3790	1·3796	1·3803	1·3809	1·3816	1·3822	1·3829	1·3835	1·3841	1·3848
76	1·3854	1·3861	1·3867	1·3874	1·3880	1·3887	1·3893	1·3900	1·3907	1·3913
77	1·3920	1·3926	1·3933	1·3939	1·3946	1·3952	1·3959	1·3965	1·3972	1·3978
78	1·3985	1·3992	1·3998	1·4005	1·4011	1·4018	1·4025	1·4031	1·4038	1·4044
79	1·4051	1·4058	1·4064	1·4071	1·4077	1·4084	1·4091	1·4097	1·4104	1·4111
80	1·4117	1·4124	1·4130	1·4137	1·4144	1·4150	1·4157	1·4164	1·4170	1·4177
81	1·4184	1·4190	1·4197	1·4204	1·4210	1·4217	1·4224	1·4231	1·4237	1·4244
82	1·4251	1·4257	1·4264	1·4271	1·4278	1·4284	1·4291	1·4298	1·4305	1·4311
83	1·4318	1·4325	1·4332	1·4338	1·4345	1·4352	1·4359	1·4365	1·4372	1·4379
84	1·4386	1·4393	1·4399	1·4406	1·4413	1·4420	1·4427	1·4433	1·4440	1·4447
85	1·4454	1·4461	1·4468	1·4474	1·4481	1·4488	1·4495	1·4502	1·4509	1·4515
86	1·4522	1·4529	1·4536	1·4543	1·4550	1·4557	1·4564	1·4570	1·4577	1·4584
87	1·4591	1·4598	1·4605	1·4612	1·4619	1·4626	1·4633	1·4640	1·4646	1·4653
88	1·4660	1·4667	1·4674	1·4681	1·4688	1·4695	1·4702	1·4709	1·4716	1·4723
89	1·4730	1·4737	1·4744	1·4751	1·4758	1·4765	1·4772	1·4779	1·4786	1·4793
90	1·4800	1·4807	1·4814	1·4821	1·4828	1·4835	1·4842	1·4849	1·4856	1·4863
91	1·4870	1·4877	1·4884	1·4891	1·4898	1·4905	1·4912	1·4919	1·4926	1·4934
92	1·4941	1·4948	1·4955	1·4962	1·4969	1·4976	1·4983	1·4990	1·4997	1·5004
93	1·5012	1·5019	1·5026	1·5033	1·5040	1·5047	1·5054	1·5061	1·5069	1·5076
94	1·5083	1·5090	1·5097	1·5104	1·5112	1·5119	1·5126	1·5133	1·5140	1·5147
95	1·5155	1·5162	1·5169	1·5176	1·5183	1·5191	1·5198	1·5205	1·5212	1·5219
96	1·5227	1·5234	1·5241	1·5248	1·5255	1·5263	1·5270	1·5277	1·5285	1·5292
97	1·5299	1·5306	1·5313	1·5321	1·5328	1·5335	1·5342	1·5350	1·5357	1·5364
98	1·5372	1·5379	1·5386	1·5393	1·5401	1·5408	1·5415	1·5423	1·5430	1·5437
99	1·5445	1·5452	1·5449	1·5467	1·5474	1·5481	1·5489	1·5496	1·5503	1·5511
100	1·5518									

in der ersten mit „Abgelesene Prozente" überschriebenen Spalte die scheinbaren abgelesenen Prozente. Die folgenden Spalten geben die berichtigten Prozente. Man sucht die der abgelesenen Temperatur entsprechende Spalte auf und geht in dieser bis zu derjenigen Zeile, an deren Anfang, in der ersten Spalte, die abgelesenen Prozente stehen. Die Zahl, auf die man trifft, gibt die berichtigten Prozente der verdünnten Lösung. Beträgt z. B. die abgelesene Temperatur 22° und die abgelesene Prozentangabe 38·6, so findet man für die berichtigten Prozente 38·7.

Die so ermittelten Prozente sind mit 2 zu vervielfältigen, um die der unverdünnten Lösung zu erhalten.

b) Polarisation.

Bei der Polarisation der Zuckerabläufe ist nach Anlage C zu verfahren. Jedoch geschieht das Abwägen und Entfärben in nachfolgend angegebener Weise.

Zur Untersuchung wird nur das halbe Normalgewicht — 13·0 *g* des Zuckerablaufs verwendet. Man wägt diese Menge in einer Messing- oder Porzellanschale ab, fügt 40 bis 50 *cm*³ lauwarmes, destilliertes Wasser hinzu und rührt mit einem Glasstabe so lange um, bis der Ablauf im Wasser sich vollständig gelöst hat. Hierauf wird die Flüssigkeit in einen Meßkolben von 100 *cm*³ Raumgehalt gefüllt, und der an der Schale und dem Glasstabe noch haftende Rest wird mit etwa 10 bis 20 *cm*³ Wasser in den Kolben nachgespült.

Man läßt dann etwa 5 *cm*³ Bleiessig in den Kolben einfließen und mischt durch vorsichtiges Umschwenken. Ist die Flüssigkeit, nachdem der Niederschlag sich abgesetzt hat — was meist in wenigen Minuten geschieht —, noch zu dunkel, so fährt man mit dem Zusatz von Bleiessig fort, bis die genügende Helligkeit erreicht ist. Oft sind bis zu 12 *cm*³ Bleiessig erforderlich. Dabei ist jedoch zu beachten, daß Bleiessig zwar genügend, aber nicht in zu großem Überschuß zugesetzt werden darf: jeder Tropfen Bleiessig muß auch noch einen Niederschlag hervorbringen.

Gelingt es nicht, die Flüssigkeit durch Bleiessig so weit zu klären, daß die Polarisation im 200 *mm*-Rohre ausgeführt werden kann, so ist zu versuchen, ob dies im 100 *mm*-Rohre möglich ist. Gelingt auch dies nicht, so muß eine neue Lösung hergestellt und mit etwa 10 *cm*³ Alaunlösung versetzt werden; diese Lösungen geben mit Bleiessig starke Niederschläge, welche klärend wirken, und sie gestatten die Anwendung großer Mengen Bleiessig.

Die zur Klärung hinzugefügten Flüssigkeiten dürfen aber natürlich nicht so viel betragen, daß die Lösung im Kolben über die Marke steigt. Nach der Klärung wird mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt und gehörig durchgeschüttelt.

Die abgelesenen Polarisationsgrade sind mit 2 zu vervielfältigen, weil nur das halbe Normalgewicht des Ablaufs zur Untersuchung verwendet worden ist. Hat man statt eines 200 *mm*-Rohres nur ein 100 *mm*-Rohr angewendet, so sind die abgelesenen Grade mit 4 zu vervielfältigen.

Berechnung des Quotienten. Bezeichnet man die ermittelten Prozente *Brix* der unverdünnten Lösung mit B und die ermittelten Polarisationsgrade mit P, so berechnet sich der Quotient Q nach der Formel $Q = \frac{100\,P}{B}$. Bei der Angabe des Endergebnisses sind die Bruchteile auf volle Zehntel abzurunden, und zwar, wenn die zweite Stelle nach dem Punkt weniger als 5 beträgt, nach unten, andernfalls nach oben.

Beispiel für die Feststellung des Quotienten. 223 *g* eines Zuckerablaufs sind mit 223 *g* Wasser verdünnt worden. Die *Brix*sche Spindel zeigt 35·2% bei 21° C; nach der Tafel 1 ist die berichtigte Prozentabgabe 35·3, dieses mit 2 vervielfältigt gibt 70·6. Die Polarisation des halben Normalgewichts im 200 *mm*-Rohre sei 25·2°; dann beträgt die wirkliche Polarisation 25·2 × 2 = 50·4°. Der Quotient berechnet sich hiernach auf $\frac{100 \cdot 50{\cdot}4}{70{\cdot}6} = 71{\cdot}39$ oder abgerundet 71·4.

Anlage B.

Anleitung zur Feststellung des Quotienten der Zuckerabläufe und zur Ermittlung des Raffinosegehaltes.

Allgemeine Vorschriften.

Die Vorschriften unter Absatz 2 und 3 der Anlage A gelten auch auf diese Feststellung mit der Maßgabe, daß auch nicht geeichte, jedoch eichfähige Geräte Verwendung finden dürfen, sofern sie durch den untersuchenden Chemiker genau geprüft worden sind; hierüber ist bei der Mitteilung des Ergebnisses ein entsprechender Vermerk zu machen. Auf die Spindeln und Gewichte bezieht sich diese Ausnahme nicht.

In allen Fällen, in denen der Gesamtzuckergehalt ermittelt wird, ist bei der Berechnung des Quotienten an die Stelle der Polarisationsgrade der Gesamtzuckergehalt, als Rohrzucker berechnet, zu setzen.

In den unter *a* und *b* bezeichneten Fällen ist zunächst nach den Vorschriften der Anlage A zu verfahren, jedoch sind die Prozente *Brix* durch Ermittelung der Dichte des unverdünnten Ablaufs bei 20° C mittelst des Pyknometers zu berechnen. Die Berechnung darf nur auf Grund der nachstehenden Tafel 2 geschehen. Ergibt diese vorläufige Untersuchung einen Quotienten, der kleiner ist als 70, und einen Invertzuckergehalt von 2 oder mehr vom Hundert, so tritt die chemische Untersuchung nach den Vorschriften des nachstehenden Abschnitts 1 ein.

Die gleichen Vorschriften gelten, sobald es sich nicht um Berücksichtigung des Raffinosegehalts handelt. Wird dagegen auch die Berücksichtigung des Raffinosegehalts verlangt, so ist bei einem 2 vom Hundert nicht erreichenden Gehalt an Invertzucker nach den Vorschriften des nachfolgenden Abschnittes 2 *a* zu verfahren. Enthält der Ablauf 2 oder mehr vom Hundert Invertzucker und ist bei der Übersendung der Proben von der Amtsstelle mitgeteilt, daß die Anwendung der Raffinoseformel zulässig

ist, so ist nach Abschnitt 2 *b* zu verfahren. Die Vorprüfung auf den Gehalt an Invertzucker geschieht in beiden Fällen nach der unter 1 der Anlage A gegebenen Vorschrift.

1. Feststellung des Quotienten ohne Rücksicht auf Raffinosegehalt.

Die folgende Vorschrift gilt in allen Fällen, unbeschadet ob Stärkezucker vorhanden ist oder nicht.

Man wägt das halbe Normalgewicht (13 *g*) vom Ablauf ab, löst es in einem Meßkolben von 100 cm^3 Raumgehalt in 75 cm^3 Wasser, setzt 5 cm^3 Salzsäure vom spez. Gew. 1·19 zu und erwärmt auf 67—70° C im Wasserbade. Auf dieser Temperatur wird der Kolbeninhalt nach 5 Minuten unter häufigem Umschütteln gehalten. Da das Anwärmen 2½—5 Minuten dauern kann, wird die Arbeit im ganzen 7½—10 Minuten in Anspruch nehmen; in jedem Falle soll sie in 10 Minuten beendet sein. Man füllt nach dem Erkalten zur Marke auf, verdünnt darauf 50 cm^3 von den 100 cm^3 zum Liter, nimmt davon 25 cm^3 (entsprechend 0·1625 *g* des Ablaufs) in einen *Erlenmeyer*schen Kolben und setzt, um die vorhandene freie Säure abzustumpfen, 25 cm^3 einer Lösung von kohlensaurem Natrium zu, welche durch Lösen von 1·7 *g* wasserfreiem Salze zum Liter bereitet ist. Darauf versetzt man mit 50 cm^3 *Fehling*scher Lösung (Anlage A 1), erhitzt in derselben Weise wie bei einer Invertzuckerbestimmung zum Sieden und hält die Flüssigkeit genau 2 Minuten im Kochen. Das Anwärmen der Flüssigkeit soll möglichst rasch mittelst eines guten Dreibrenners geschehen und unter Benutzung eines Drahtnetzes mit übergelegter ausgeschnittener Asbestpappe 3½—4 Minuten in Anspruch nehmen; sobald die Flüssigkeit kräftig siedet, wird der Dreibrenner mit einem Einbrenner vertauscht. Nach dem Erhitzen verdünnt man die Flüssigkeit in dem Kolben mit der gleichen Raummenge luftfreien, kalten Wassers und verfährt im übrigen genau nach dem für Invertzuckerbestimmung bekannten Verfahren der Gewichtsanalyse mittelst Reduktion des Kupferoxyduls im Wasserstoffstrom oder Ausfällung des Kupfers aus der salpetersauren Lösung des Kupferoxyduls auf elektrolytischem Wege. Zur Berechnung des Ergebnisses aus der gefundenen Kupfermenge ist ausschließlich die nachfolgende Tafel zu benutzen, welche den Rohrzuckergehalt unmittelbar in Prozenten angibt. Die Umrechnung des Invertzuckers in Rohrzucker ist demnach nicht erforderlich.

Tafel zur Berechnung des Rohrzuckergehaltes aus der gefundenen Kupfermenge bei 2 Minuten Kochdauer und 0·1625 *g* Ablauf.

Kupfer *mg*	Rohrzucker %	Kupfer *mg*	Rohrzucker %	Kupfer *mg*	Rohrzucker %	Kupfer *mg*	Rohrzucker %
79	23·57	126	38·58	173	53·42	220	68·68
80	23·88	127	38·89	174	53·72	221	69·05
81	24·12	128	39·20	175	54·03	222	69·42

Kupfer *mg*	Rohrzucker %	Kupfer *mg*	Rohrzucker %	Kupfer *mg*	Rohrzucker %	Kupfer *mg*	Rohrzucker %
82	24·43	129	39·51	176	54·34	223	69·66
83	24·74	130	39·82	177	54·65	224	70·03
84	25·05	131	40·43	178	55·01	225	70·40
85	25·35	132	40·18	179	55·32	226	70·71
86	25·66	133	40·74	180	55·63	227	71·02
87	25·97	134	41·11	181	55·94	228	71·38
88	26·28	135	41·42	182	56·25	229	71·69
89	26·52	136	41·66	183	56·62	230	72·00
90	27·45	137	42·03	184	56·86	231	72·37
91	27·69	138	42·34	185	57·17	232	72·68
92	28·00	139	42·65	186	57·54	233	73·05
93	28·31	140	42·95	187	57·85	234	73·35
94	28·62	141	43·26	188	58·15	235	73·66
95	28·92	142	43·57	189	58·52	236	74·03
96	29·23	143	43·88	190	58·83	237	74·34
97	29·54	144	44·18	191	59·14	238	74·71
98	29·85	145	44·49	192	59·45	239	75·02
99	30·15	146	44·86	193	59·82	240	75·38
100	30·46	147	45·11	194	60·18	241	75·69
101	30·83	148	45·48	195	60·43	242	76·00
102	31·08	149	45·78	196	60·80	243	76·37
103	31·38	150	46·15	197	61·17	244	76·68
104	31·75	151	46·40	198	61·42	245	77·05
105	32·06	152	46·77	199	61·78	246	77·35
106	32·31	153	47·08	200	62·15	247	77·72
107	32·68	154	47·32	201	62·46	248	78·03
108	33·05	155	47·69	202	62·77	249	78·40
109	33·29	156	48·00	203	63·08	250	78·71
110	33·60	157	48·37	204	63·45	251	79·02
111	33·91	158	48·62	205	63·75	252	79·38
112	34·22	159	48·98	206	64·06	253	79·69
113	34·58	160	49·29	207	64·43	254	80·06
114	34·83	161	49·60	208	64·80	255	80·37
115	35·14	162	49·91	209	65·05	256	80·74
116	35·51	163	50·22	210	65·42	257	81·05
117	35·75	164	50·58	211	65·78	258	81·35
118	36·06	165	50·83	212	66·03	259	81·72
119	36·43	166	51·20	213	66·40	260	82·09
120	36·74	167	51·51	214	66·77	261	82·40
121	36·98	168	51·82	215	67·08	262	82·71
122	37·35	169	52·12	216	67·38	263	83·08
123	37·66	170	52·43	217	67·69	264	83·45
124	37·97	171	52·80	218	68·06	265	83·69
125	38·28	172	53·11	219	68·37	266	84·06

Bei der Berechnung des Quotienten sind im Endergebnisse die Hundertstelle auf Zehntel abzurunden, und zwar, wenn die zweite Stelle nach dem Punkt weniger als 5 beträgt, nach unten, andernfalls nach oben.

Beispiel: 25 *cm*³ des invertierten Zuckerablaufes, enthaltend 0·1625 *g* des Ablaufes, geben bei der Reduktion 171 *mg* Kupfer; diese entsprechen 52·80 % Zucker. Angenommen, der Ablauf zeigte 74·6 % Brix, so ist sein Quotient 70·77 oder abgerundet 70·8.

2. Feststellung des Quotienten der Zuckerabläufe mit Rücksicht auf Raffinosegehalt.

a) Besteht Sicherheit darüber, daß der Gehalt an Invertzucker 2 vom Hundert nicht erreicht, so bedarf es außer der Feststellung der Prozente Brix nur der Bestimmung der Polarisation nach Anlage A und C vor und nach der Inversion, bezogen auf das ganze Normalgewicht. Die Inversion ist nach dem unter 1. beschriebenen Verfahren auszuführen. Bezeichnen P und J die Polarisationsgrade, so ist der Gehalt an Zucker

$$Z = \frac{0·5124 . P - J}{0·839}.$$

Will man außerdem den Gehalt an Raffinosehydrat ermitteln, so dient dazu die Formel:

$$R = \frac{P - Z}{1·572}.$$

Beispiel: Für einen Ablauf von 56·2 % Brix, 56·6° direkter Polarisation und −13·1° Polarisation nach der Inversion (bezogen auf das ganze Normalgewicht) berechnet sich der Zuckergehalt auf

$Z = \frac{0·5124 . 56·6 - (-13·1)}{0·839} = 50·18$ oder abgerundet 50·2 %; der Gehalt an Raffinosehydrat auf $R = \frac{56·6 - 50·2}{1·572} = 4·07$ oder abgerundet 4·1 %; der Quotient auf $Q = \frac{100 . 50·2}{56·2} = 89·32$ oder abgerundet 89·3.

b) Bei einem Gehalte von 2 vom Hundert Invertzucker und darüber muß statt der direkten Polarisation (P) des vorigen Verfahrens die Bestimmung des Gesamtzuckers in dem invertierten Ablauf mittelst *Fehling*scher Lösung treten.

Nachdem die Prozente Brix ermittelt worden sind, bestimmt man den Gehalt des Ablaufs an Zucker (Z), indem man die durch den invertierten Ablauf aus *Fehling*scher Lösung abgeschiedene Menge Kupfer (Cu) nach den Vorschriften des Abschnittes 1 und die Inversionspolarisation (J) — bezogen auf das ganze Normalgewicht — feststellt.

Der Berechnung ist die folgende Formel zugrunde zu legen:

$$Z = \frac{58·298 . Cu - J . F_2}{0·9491 . F_1 + 0·3266 . F_2},$$

in welcher F_1 und F_2 die Reduktionsfaktoren einerseits des invertierten Rohrzuckers, andrerseits der invertierten Raffinose bedeuten. Nachstehend

sind diese Werte unter der Voraussetzung, daß nur Zucker, Invertzucker und Raffinose vorhanden sind, für die hauptsächlich in Betracht kommenden Kupfermengen von 0·120—0·230 *g* berechnet und die Formel ist durch Einsetzung der berechneten Werte vereinfacht worden.

Für Cu =	120 *mg* ist	Z = 247·0 . Cu — 0·608 . J
	130 *mg*	Z = 247·4 . Cu — 0·607 . J
	140 *mg*	Z = 247·7 . Cu — 0·606 . J
	150 *mg*	Z = 248·1 . Cu — 0·605 . J
	160 *mg*	Z = 248·4 . Cu — 0·604 . J
	170 *mg*	Z = 248·7 . Cu — 0·604 . J
	180 *mg*	Z = 249·2 . Cu — 0·604 . J
	190 *mg*	Z = 249·7 . Cu — 0·604 . J
	200 *mg*	Z = 250·0 . Cu — 0·604 . J
	210 *mg*	Z = 250·4 . Cu — 0·605 . J
	220 *mg*	Z = 251·2 . Cu — 0·606 . J
	230 *mg*	Z = 251·7 . Cu — 0·607 . J.

Da die Reduktionsfaktoren sich nur sehr langsam ändern, so genügt die vorstehende Berechnung von 0·01 zu 0·01 *g* Kupfer. Milligramme Kupfer rundet man beim Aufsuchen des entsprechenden Wertes in der Tafel auf Zentigramme ab, und zwar unterhalb 5 nach unten, anderenfalls nach oben.

Den Gehalt an Raffinosehydrat findet man nach der Formel

$$R = (1{\cdot}054 . J + 0{\cdot}344 . Z) . 1{\cdot}178.$$

Beispiel: Der Ablauf habe eine Inversionspolarisation J = — 8·5° und eine Menge Kupfer — nach der Inversion und bezogen auf 0·1625 *g* — Cu = 0·184 *g* ergeben. Dann ist aus der Tafel für Cu = 180 *mg* der Wert

$$Z = 249{\cdot}2 . Cu - 0{\cdot}604 . J \text{ oder}$$
$$Z = 249{\cdot}2 . 0{\cdot}184 - 10{\cdot}604 . (-8{\cdot}5)$$
$$Z = 50{\cdot}98\% \text{ oder abgerundet } 51{\cdot}0\%.$$

Daraus berechnet sich nach obiger Raffinoseformel der Gehalt an Raffinosehydrat

$$R = [1{\cdot}054 . (-8{\cdot}5) + 0{\cdot}344 . 51{\cdot}0] . 1{\cdot}178 = 10{\cdot}11\%$$
$$\text{oder abgerundet} = 10{\cdot}1\%.$$

Anlage C.

Anleitung zur Bestimmung der Polarisation.

Zur Bestimmung der Polarisation für Zwecke der Steuerverwaltung darf nur ein Halbschattensaccharimeter benutzt werden. Für dieses entspricht bei Beobachtung im 200 *mm*-Rohre 1° Drehung einem Gehalte von 0·26 *g* Zucker in 100 cm^3 Flüssigkeit bei der Normaltemperatur von 20° C; eine Zuckerlösung, welche in 100 cm^3 26 *g* — das sogenannte Normalgewicht — Zucker enthält, bewirkt sonach eine Drehung von 100°. Demgemäß zeigen, wenn man im 200 *mm*-Rohre eine Lösung untersucht,

welche in 100 cm^3 26 *g* der Probe enthält, die Grade der Skala die Prozente Zucker an. Wendet man nur die Hälfte des Normalgewichtes zur Untersuchung an, so müssen die abgelesenen Grade verdoppelt werden, um Prozente Zucker zu erhalten. Dasselbe gilt für diejenigen Fälle, in denen die Untersuchung einer, das ganze Normalgewicht enthaltenden Lösung in einem 100 *mm*-Rohre erfolgt. Andrerseits machen Untersuchungen von Lösungen des doppelten Normalgewichtes im 200 *mm*-Rohre, sowie von solchen des einfachen Normalgewichtes im 400 *mm*-Rohre die Halbierung der abgelesenen Grade erforderlich

Die Untersuchungen sind namentlich bei Polarisationen nach der Inversion, möglichst bei der angegebenen Normaltemperatur vorzunehmen.

Bei der Polarisation ist wie folgt zu verfahren:

Man wiegt auf einer geeigneten Wage zunächst eine Messingschale oder ein zur Aufnahme des zu untersuchenden Zuckers dienendes, zweckmäßig an den beiden Langseiten umgebogenes Kupferblech und wägt darauf das Normalgewicht, 26 *g*, des zu untersuchenden Zuckers ab. Falls die Zuckerprobe nicht gleichmäßig gemischt ist, ist es notwendig, sie vor dem Abwägen unter Zerdrücken der etwa vorhandenen Klumpen gut durchzurühren. Die Wägung muß mit einer gewissen Schnelligkeit geschehen, weil sonst, besonders in warmen Räumen, die Probe Wasser abgeben kann, wodurch die Polarisation erhöht wird. Man löst die abgewogene Zuckermenge alsdann in der Messingschale auf oder schüttet sie vom Kupferblech durch einen Trichter in einen Meßkolben von 100 cm^3 Raumgehalt, spült anhängende Zuckerteilchen mit etwa 80 cm^3 destilliertem Wasser von Zimmerwärme, welches man einer Spritzflasche entnimmt, nach und bewegt die Flüssigkeit im Kolben unter leisem Schütteln und Zerdrücken größerer Klümpchen mit einem Glasstabe so lange, bis der Zucker sich vollständig gelöst hat. Am Glasstabe haftende Zuckerlösung wird beim Entfernen des Stabes mit destilliertem Wasser ins Kölbchen zurückgespült, und dieses eine halbe Stunde lang im Wasser von 20° C gestellt. Hierauf wird die Flüssigkeit im Kolben mittelst destillierten Wassers genau bis zu der Marke aufgefüllt. Zu diesem Zwecke hält man den Kolben in senkrechter Stellung gegen das Licht so vor sich, daß in der Höhe des Auges die Kreislinie der Marke sich als eine gerade Linie darstellt, und setzt tropfenweise destilliertes Wasser zu, bis der untere, dunkel erscheinende Rand der gekrümmten Oberfläche der Flüssigkeit im Kolbenhalse in eine Linie mit dem als Marke dienenden Ätzstrich fällt. Nach dem Auffüllen ist der Kolbenhals mit Filtrierpapier zu trocknen und die Flüssigkeit durch Schütteln gut mindestens 1—2 Minuten lang durchzumischen.

Zuckerlösungen, welche nach der weiterhin zu erwähnenden Filtrierung nicht klar oder noch so dunkel gefärbt sind, daß sie im Polarisationsapparate nicht hinlänglich durchsichtig sind, müssen vor dem Auffüllen zur Marke geklärt oder, wenn erforderlich, entfärbt werden.

Die Klärung geschieht in der Regel durch Zusatz von 3—5 cm^3 eines dünnen Breies von Tonerdehydrat nebst 1—3 cm^3 Bleiessig. Gelingt

die Klärung auf diese Weise nicht, so ist der Bleiessigzusatz vorsichtig zu vermehren, jedoch nur soweit, daß jeder neu hinzugesetzte Tropfen Bleiessig noch einen Niederschlag hervorruft.

Nach der Klärung wird der innere Teil des Halses des Kölbchens mit destilliertem Wasser mittels einer Spritzflasche abgespült und die Lösung in der oben angegebenen Weise bis zur Marke aufgefüllt. Hierauf wird die im Halse des Kölbchens etwa noch anhaftende Flüssigkeit mit Fließpapier abgetupft, die Öffnung des Kölbchens durch Andrücken eines Fingers geschlossen und der Inhalt durch wiederholtes Umkehren und Schütteln des Kolbens gut durchgemischt.

Bezüglich der Klärung gelten folgende allgemeine Bemerkungen:

1. Die Flüssigkeit braucht um so weniger entfärbt zu sein, je größer die Lichtstärke der Lampe ist, welche zur Beleuchtung des Polarisationsapparates dient. Man bedient sich einer Glühlichtlampe (Spiritus oder Gas) oder einer Petroleumlampe, im Notfall auch einer gewöhnlichen Gaslampe oder einer elektrischen Lampe, welche zu dem vorliegenden Zwecke hergerichtet ist. Doch ist ein chromsäurehaltiges Strahlenfilter zwischen Lichtquelle und Auge einzuschalten.

2. Bleiessig darf nie in allzu großer Menge zugesetzt werden. Bei einiger Übung lernt man sehr bald erkennen, wann mit dem Bleiessigzusatz aufgehört werden muß.

3. Die Wirkung des Klärmittels ist um so besser, je kräftiger die Flüssigkeit nach dem Auffüllen zur Marke durchgeschüttelt wird.

Man schreitet dann zum Filtrieren der Flüssigkeit mittels eines in einen Glastrichter eingesetzten Papierfilters. Der Trichter wird auf einen sogenannten Filtrierzylinder, welcher die Flüssigkeit aufnimmt, gesetzt und, um Verdunstung zu verhüten, mit einer Glasplatte oder einem Uhrglase bedeckt. Trichter und Zylinder müssen ganz trocken sein; ein Feuchtigkeitsgehalt würde die Zuckerlösung verdünnen.

Zweckmäßig wird das Filter so groß hergestellt, daß man die 100 cm^3 Flüssigkeit auf einmal aufgießen kann; auch empfiehlt es sich, falls das Papier nicht sehr dick ist, ein doppeltes Filter anzuwenden. Die ersten durchlaufenden Tropfen werden weggegossen, weil sie trübe sind und durch den Feuchtigkeitsgehalt des Filtrierpapiers beeinflußt sein können. Ist das nachfolgende Filtrat trübe, so muß es so lange auf das Filter zurückgegossen werden, bis es klar durchläuft. Es ist dringend notwendig, diese Vorsichtsmaßregel nicht zu verabsäumen, da nur mit ganz klaren Flüssigkeiten sich sichere polarimetrische Beobachtungen anstellen lassen.

Nachdem auf die beschriebene Weise eine klare Lösung erzielt worden ist, wird das Rohr, welches zur polarimetrischen Beobachtung dienen soll, mit dem dazu erforderlichen Teile der im Filtrierzylinder aufgefangenen Flüssigkeit gefüllt.

In der Regel ist ein 200 *mm*-Rohr zu benutzen; wird dabei eine genügende Klarheit des Bildes im Polarisationsapparat nicht erreicht, so ist die Benutzung eines 100 *mm*-Rohres vorzuziehen.

Die Beobachtungsrohre sind aus Messing oder Glas gefertigt; ihr Verschluß an beiden Enden wird durch runde Glasplatten, sogenannte Deckgläschen, bewirkt. Festgehalten werden die Deckgläschen entweder durch aufzusetzende Schraubenkapseln oder durch federnde Kapseln, welche über das Rohr geschoben und von den Federn festgehalten werden.

Die Rohre müssen gut gereinigt und getrocknet sein. Die Reinigung geschieht zweckmäßig durch wiederholtes Ausspülen mit Wasser und Nachstoßen eines trockenen Pfropfens aus Papier oder entfetteter Watte mittels eines Holzstabes. Die Deckgläser müssen blank geputzt sein und dürfen keine fehlerhaften Stellen oder Schrammen zeigen. Beim Füllen des Rohres ist seine Erwärmung durch die Hand zu vermeiden. Man faßt deshalb das unten geschlossene Rohr am oberen Teile nur mit zwei Fingern an, gießt es so voll, daß die Flüssigkeitskuppe die obere Öffnung überragt, wartet kurze Zeit, um etwa entstandenen Luftblasen Zeit zum Aufsteigen zu lassen (was durch sanftes Aufstoßen des senkrecht gehaltenen Rohres beschleunigt wird), und schiebt das Deckgläschen von der Seite in wagrechter Richtung über die Öffnung des Rohres. Das Aufschieben muß so schnell und sorgfältig ausgeführt werden, daß unter dem Deckgläschen keine Luftblase entstehen kann. Ist das Überschieben das erstemal nicht befriedigend ausgefallen, so muß es wiederholt werden, nachdem man das Deckgläschen wieder geputzt und getrocknet und die Kuppe der Zuckerlösung an der Mündung des Rohres durch Hinzufügen einiger Tropfen der Flüssigkeit wiederhergestellt hat. Nach dem Aufschieben des Deckgläschens wird das Rohr mit der Kapsel verschlossen. Erfolgt der Verschluß mit einer Schraubenkapsel, so ist mit Sorgfalt darauf zu achten, daß diese nur soweit angezogen wird, daß das Deckgläschen nur eben in fester Lage sich befindet; ist das Deckgläschen zu fest angezogen, so kann es optisch aktiv werden, und man erhält bei der Polarisation ein unrichtiges Ergebnis. Ist die Schraube zu stark angezogen worden, so genügt es nicht, sie zu lockern, sondern man muß auch längere Zeit warten, bevor man die Polarisation vornimmt, da die Deckgläschen das angenommene Drehungsvermögen zuweilen nur langsam wieder verlieren. Um sicher zu gehen, wiederholt man alsdann die Beobachtung mehrere Male nach Verlauf von je 10 Minuten, bis das Ergebnis keine Änderung mehr erleidet.

Nachdem das Rohr gefüllt ist, hält man es gegen das Licht und überzeugt sich, ob das Gesichtsfeld kreisrund erscheint, und ob insbesondere keine Teile des zur Milderung der Pressung des Deckgläschens eingelegten Gummiringes über den inneren Metallrand der Verschlußkapsel hervorragen. Zeigen sich solche Gummiteile, so ist ein anderes trockenes Rohr unter Verwendung eines weiter ausgeschnittenen Gummiringes mit der Flüssigkeit zu füllen. Sodann wird der Polarisationsapparat zur Beobachtung bereit gemacht. Dieser soll in einem Raum aufgestellt werden, welcher möglichst eine Wärme von 20° C zeigt und welcher durch Verhängen der Fenster und dergleichen nach Möglichkeit verdunkelt ist, damit das Auge bei der Beobachtung durch seitliche Lichtstrahlen nicht gestört wird. Es

ist darauf zu achten, daß die zum Apparat gehörige Lampe in gutem Stande sei. Man stellt die Lampe in einer Entfernung von 15—20 *cm* vom Apparat auf. Nach dem Anzünden wartet man mindestens eine Viertelstunde, ehe man zur Polarisation schreitet. Jede Veränderung der Beschaffenheit der Flamme oder der Entfernung der Lampe vom Apparat, also jedes Hoch- oder Niedrigschrauben des Dochtes oder der Flamme, jedes Vorwärtsschieben oder Drehen der Lampe beeinflußt das Ergebnis der Beobachtung.

Durch Verschiebung des Fernrohres, welches an dem vorderen Ende des Apparats sich befindet, stellt man diesen alsdann so ein, daß die Linie, welche das Gesichtsfeld im Apparat in zwei Teile teilt, scharf zu erkennen ist. Man drückt dabei das Auge nicht an das Augenglas des Fernrohrs an, sondern hält es 1 bis 3 *cm* davon ab und sorgt dafür, daß der Körper sich während der Beobachtung in bequemer Stellung befindet, da jede unnatürliche Stellung zu einer störenden Anstrengung des Auges führt. Wenn der Apparat richtig eingestellt ist, muß das Gesichtsfeld kreisrund und scharf begrenzt erscheinen. Man beruhige sich niemals mit einer unvollkommenen Erfüllung dieser Vorbedingung, sondern ändere die Stellung der Lampe des Apparats oder des Fernrohrs so lange, bis man das bezeichnete Ziel erreicht hat.

Man überzeugt sich zunächst von der Richtigkeit des Apparats, indem man die Polarisation einer Quarzplatte bestimmt, deren Drehungswert bekannt ist. Man legt die Platte so in den vorderen Teil des Apparats hinein, daß sie dem Beobachter zugekehrt ist, schließt den Deckel des Apparats und schreitet nun zur Beobachtung, indem man die Schraube unterhalb des Fernrohrs hin und her spielen läßt, bis die beiden durch die Linie getrennten Hälften des Gesichtsfeldes gleich beschattet erscheinen.

Die Nullpunktablesung wird schließlich in folgender Weise vorgenommen. Man liest an der mit einem Nonius versehenen Skala des Apparats, welche man durch Verschiebung eines Spiegels scharf sichtbar machen kann, das Ergebnis der Einstellung ab. Auf dem festliegenden Nonius ist der Raum von 9 Teilen der Skala in 10 gleiche Teile geteilt. Auf der Skala liest man die ganzen Grade von 0 bis zum letzten Gradstriche vor dem Nullpunkte des Nonius ab, die Teilung des Nonius wird zur Ermittelung der zuzuzählenden Zehntel benutzt: diese sind durch die Nummer desjenigen Noniusstrichs gegeben, welcher sich mit einem der Striche der Skala deckt. Wenn der Apparat richtig ist, so muß die gefundene Drehung mit dem bekannten Polarisationswerte der Quarzplatte übereinstimmen. Ist dies nicht der Fall, so muß die Abweichung bei der Polarisation der Zuckerprobe in Anrechnung gebracht werden.

Man begnügt sich nicht mit einer Einstellung, sondern macht mindestens 6 Einstellungen und berechnet das Mittel der dabei gefundenen Abweichungen. Geben einzelne Ablesungen eine Abweichung von mehr als $^3/_{10}$ Teilstrichen von dem Durchschnitte, so werden sie als unrichtig außer Betracht gelassen. Zwischen je zwei Beobachtungen gönnt man dem Auge 10 bis 40 Sekunden Ruhe.

Nachdem man die Prüfung des Apparats beendet hat, wird das Rohr mit der Zuckerlösung in den Apparat gelegt. Man wiederholt jetzt die genaue Einstellung des Fernrohrs, bis die Linie, welche das Gesichtsfeld teilt, wieder deutlich sichtbar und ein scharfes, kreisrundes Bild des Gesichtsfeldes erzielt wird. Bleibt das Gesichtsfeld auch nach Veränderung der Einstellung getrübt, so muß die ganze Untersuchung noch einmal von vorn begonnen werden. Hat man dagegen ein klares Bild erzielt, so dreht man die unter dem Fernrohre befindliche Schraube wieder so lange, bis gleiche Beschattung eingetreten ist. Hierauf liest man an der Skala denjenigen Grad, welcher dem Nullpunkte des Nonius vorangeht, und an letzterem die Zehntelgrade ab. Wiederum führt man die einzelnen Beobachtungen mit Zwischenräumen von 10 bis 40 Sekunden so lange aus, bis 5 oder 6 derselben untereinander um nicht mehr als $^{3}/_{10}$ Grade abweichen; als Endergebnis der Polarisation nimmt man den Durchschnitt der so ermittelten Werte. Ergab die Prüfung der Quarzplatte nicht den richtigen Wert, so muß man die Abweichung berücksichtigen, und zwar hinzurechnen, wenn die Polarisation zu niedrig, und abziehen, wenn sie zu hoch war.

Ermittelung des Zuckergehaltes wässeriger Zuckerlösungen aus der Dichte bei 15° C.

Zugleich Extrakttafel für die Untersuchung von Bier, Süßweinen, Likören, Fruchtsäften etc.

Nach der amtlichen Tafel der Kaiserlichen Normal-Eichungs-Kommission berechnet von Dr. *Karl Windisch.*

Über den Gebrauch der Zucker- und Extrakttafel.

1. Liegen wässerige Zucker- oder Extraktlösungen zur Untersuchung vor, denen keine Stoffe beigemischt sind, welche auf die Dichte einen Einfluß ausüben, z. B. wässerige Zuckerlösungen, Moste, Bierwürzen, süße Maischen usw., so bestimmt man, je nach dem verlangten Genauigkeitsgrade, die Dichte der Lösungen mit Hilfe des Dichtefläschchens, der *Westphal*schen Wage oder nach einem anderen Verfahren. Der der ermittelten Dichte entsprechende Zucker- oder Extraktgehalt ergibt sich unmittelbar aus der zweiten und dritten Spalte der Tafel I, und zwar erfährt man aus der zweiten Spalte die Gewichtsprozente Zucker bzw. Extrakt und aus der dritten Spalte die Gramme Zucker bzw. Extrakt in 100 cm^3 der Lösung.

Beispiel 1. Die Dichte einer Bierwürze ergab sich zu $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right) =$ 1·0521. Nach Maßgabe der zweiten Spalte der Tafel I enthält die Bierwürze 12·84 Gewichtsprozent Extrakt.

Beispiel 2. Die Dichte eines Mostes wurde zu $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right) = 1{\cdot}0763$ gefunden. Aus der dritten Spalte der Tafel I ergibt sich, daß in 100 cm^3 Most 19·81 *g* Extrakt enthalten sind.

2. Enthält die zu untersuchende Flüssigkeit neben Wasser und Extraktbestandteilen noch andere Stoffe, welche die Dichte beeinflussen (in

der Mehrzahl der Fälle Alkohol), so muß man diese Stoffe zunächst auf geeignete Weise entfernen. Der in den geistigen Getränken enthaltene Alkohol wird durch Eindampfen der Flüssigkeit verjagt. Je nachdem man den Extraktgehalt der Flüssigkeit nach Gewichtsprozenten oder nach Grammen in 100 cm^3 ausdrücken will, schlägt man hierbei, um jede Umrechnung zu vermeiden, verschiedene Wege ein.

a) Will man den Extraktgehalt einer Flüssigkeit in Gewichtsprozenten ausdrücken, so füllt man den entgeisteten Eindampfrückstand der Flüssigkeit nach dem Erkalten mit Wasser bis zum ursprünglichen Gewichte auf, bestimmt die Dichte dieser Lösung und entnimmt aus der zweiten Spalte der Tafel I die entsprechenden Gewichtsprozente Extrakt.

Beispiel. Es soll der Extraktgehalt eines Bieres in Gewichtsprozenten bestimmt werden. Eine bestimmte Menge Bier wird genau abgewogen, auf dem Wasserbade oder über einer ganz kleinen Flamme auf die Hälfte eingedampft und der Eindampfrückstand nach dem Erkalten bis zum ursprünglichen Gewichte mit Wasser wieder aufgefüllt. Die Dichte dieser wässerigen Lösung ergab sich zu $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right) = 1·0213$. Nach Maßgabe der zweiten Spalte der Tafel I enthält das Bier 5·40 Gewichtsprozent Extrakt.

b) Will man den Extraktgehalt einer Flüssigkeit nach Grammen in 100 cm^3 der Flüssigkeit ausdrücken, so füllt man den entgeisteten Eindampfungsrückstand der Flüssigkeit nach dem Erkalten mit Wasser bis zum ursprünglichen Raume auf, bestimmt die Dichte dieser Lösung und entnimmt aus der dritten Spalte der Tafel I die entsprechenden Gramme Extrakt in 100 cm^3 der Flüssigkeit

Beispiel. Es sollen die Gramme Extrakt in 100 cm^3 eines Likörs bestimmt werden. Ein bestimmter Raumteil Likör wird bei 15° C abgemessen, die Flüssigkeit auf dem Wasserbade eingedampft, bis der gesamte Alkohol verjagt ist, und der Eindampfungsrückstand nach dem Erkalten bei 15° C mit Wasser bis zu dem ursprünglichen Raume wieder aufgefüllt. Die Dichte dieser wässerigen Lösung wurde zu $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$ $= 1·0675$ gefunden. Nach Maßgabe der dritten Spalte der Tafel I enthält der Likör 17·51 *g* Extrakt in 100 cm^3.

Bei der Untersuchung des Weines, wo die Bestandteile ebenfalls nach Grammen in 100 cm^3 angegeben werden sollen, ist die Extraktbestimmung nur dann nach dem indirekten Verfahren auszuführen, wenn der Wein 4 *g* oder mehr Extrakt in 100 cm^3 enthält. Würde man extraktreiche Süßweine zur Verjagung des Alkohols eindampfen, so würde ein größerer Teil der Extraktbestandteile sich unlöslich abscheiden und bei der Bestimmung der Dichte ohne Wirkung sein. Man bestimmt daher die Dichte des entgeisteten und auf den ursprünglichen Raum mit Wasser aufgefüllten Weines nicht unmittelbar, sondern berechnet diesen Wert aus der Dichte des ursprünglichen Weines und der Dichte des alkoholischen Wein-

destillates, das man auf den ursprünglichen Raum des Weines mit Wasser aufgefüllt hat. Bedeutet:

d die Dichte des Weines bei 15° C, bezogen auf Wasser von 15° C,

d_1 die Dichte des alkoholischen, bei 15° C auf den ursprünglichen Raum mit Wasser aufgefüllten Destillates des Weines bei 15° C, bezogen auf Wasser von 15° C,

x die (zu berechnende) Dichte des entgeisteten und bei 15° C auf den ursprünglichen Raum mit Wasser aufgefüllten Weines bei 15° C, bezogen auf Wasser von 15° C,

so ist: $$x = 1 + d - d_1.$$

Die dem berechneten Werte der Dichte x entsprechenden Gramme Extrakt in 100 *cm*³ Wein entnimmt man der dritten Spalte der Tafel I.

Beispiel. Es soll der Extraktgehalt eines Süßweines bestimmt werden. Die Dichte des Weines ergab sich zu $d\left(\frac{15^0}{15^0}\,C\right) = 1{\cdot}0784$. Dann wurden 50 *cm*³ Wein destilliert und das alkoholische Destillat bei 15° C mit Wasser auf 50 *cm*³ aufgefüllt; die Dichte des Destillates ergab sich zu $d\left(\frac{15^0}{15^0}\,C\right) = 0{\cdot}8792$. Dann ist die (berechnete) Dichte x des entgeisteten, bei 15° C auf den ursprünglichen Raum mit Wasser aufgefüllten Weines bei 15° C, bezogen auf Wasser von derselben Temperatur:

$$x = 1 + 1{\cdot}0784 - 0{\cdot}9792 = 1{\cdot}0992.$$

Der Dichte 1·0992 entsprechen nach Maßgabe der dritten Spalte der Tafel I 25·83 *g* Extrakt in 100 *cm*³ Flüssigkeit. Der Süßwein enthält somit 25·83 *g* Extrakt in 100 *cm*³.

5. Manche Zuckerlösungen und zuckerreichen Lebensmittel sind so konzentriert und dickflüssig, daß es nicht möglich ist, ihre Dichte unmittelbar mit der nötigen Genauigkeit zu bestimmen. In diesem Falle löst man eine abgewogene Menge der sirupdicken Flüssigkeit in einer so gewählten abgewogenen Menge Wasser, daß die entstehende Lösung dünnflüssig ist. Man bestimmt die Dichte der Lösung bei 15° C, entnimmt der zweiten Spalte der Tafel I die der gefundenen Dichte entsprechenden Gewichtsprozente Extrakt und rechnet diese auf 100 Gewichtsteile der ursprünglichen Flüssigkeit um.

Beispiel. Es soll der Extraktgehalt eines dickflüssigen Fruchtsaftes bestimmt werden. 25·4274 *g* Fruchtsaft wurden in 51·7861 *g* Wasser gelöst; das Gewicht der Lösung betrug somit 77·2135 *g*. Die Dichte der Lösung wurde zu $d\left(\frac{15^0}{15^0}\,C\right) = 1{\cdot}0803$ ermittelt; nach Maßgabe der zweiten Spalte der Tafel I entsprechen dieser Dichte der Fruchtsaftlösung 19·33 Gewichtsprozent Extrakt, d. h. in 100 *g* der Lösung sind 19·33 *g* Extrakt enthalten. In 77·2135 *g* der Fruchtsaftlösung sind demnach $\frac{19{\cdot}33 \cdot 77{\cdot}2135}{100} = 14{\cdot}9144$ *g* Extrakt enthalten. Diese Extraktmenge stammt aus 25·4274 *g* des ursprünglichen Fruchtsaftes; in 100 *g*

ursprünglichen Fruchtsaftes sind somit $\frac{14\cdot9144 \,.\, 100}{25\cdot4274} = 58\cdot65$ *g* Extrakt, d. h. der zu untersuchende Fruchtsaft enthält 58·65 *g* Gewichtsprozent Extrakt.

Zur Berechnung des Extraktgehaltes dickflüssiger Substanzen kann man sich folgender Formel bedienen. Wurden a Gramm der Substanz in b Gramm Wasser gelöst, und enthielt diese Lösung nach Maßgabe der Dichtebestimmung p Gewichtsprozent Extrakt, so enthält die ursprüngliche Substanz

$$x = \frac{p\,(a + b)}{a} \text{ Gewichtsprozent Extrakt.}$$

In ähnlicher Weise kann man bei der Bestimmung des Wassergehaltes sehr zähflüssiger, dicker Sirupe und halbflüssiger zuckerreicher Stoffe, z. B. Honig und Gelees, verfahren. Die Bestimmung des Wassergehaltes dieser Stoffe durch unmittelbares Eintrocknen ist schwierig und ungenau. In einfacherer Weise gelangt man zu einem hinreichend genauen Werte für den Wassergehalt, indem man nach dem indirekten Verfahren ihren Extraktgehalt oder Trockenrückstand bestimmt. Man verfährt dabei genau in derselben Weise wie bei konzentrierten Zuckerlösungen.

Beispiel. Es soll der Wassergehalt eines Honigs bestimmt werden. 17·4263 *g* Honig wurden in 52·5147 *g* Wasser gelöst; das Gewicht der Lösung betrug somit 69·941 *g*. Die Dichte der Honiglösung wurde zu $d\left(\frac{15^0}{15^0}\,C\right) = 1\cdot0838$ gefunden; nach Maßgabe der zweiten Spalte der Tafel I entsprechen diesem Werte der Dichte 20·11 Gewichtsprozent Extrakt, d. h. in 100 *g* Honiglösung sind 20·11 *g* Extrakt enthalten. In 69·941 *g* Honiglösung sind daher $\frac{20\cdot11 \,.\, 69\cdot941}{100} = 14\cdot0651$ *g* Extrakt enthalten. Diese Extraktmenge stammt aus 17·4263 *g* Honig; in 100 *g* Honig sind daher $\frac{14\cdot0651 \,.\, 100}{17\cdot4263} = 80\cdot72$ *g* Extrakt, d. h. der zu untersuchende Honig enthält 80·72 Gewichtsprozent Extrakt. Neben Extrakt enthält der Honig nur noch Wasser; der Wassergehalt ist daher gleich 100 — 80·72 = 19·28 Gewichtsprozent.

Zur Berechnung des Wassergehaltes zähflüssiger Substanzen kann man sich folgender Formel bedienen. Haben a, b und p dieselbe Bedeutung wie vorher, so enthält die ursprüngliche Substanz

$$x = 100 - \frac{p\,(a + b)}{a} \text{ Gewichtsprozent Wasser.}$$

4. Der Gebrauch der Tafel II bedarf keiner Erläuterung. Wurde z. B. der Extraktgehalt einer Bierwürze mit Hilfe eines Saccharometers (einer Zucker- oder Extraktspindel) zu 13·4 Gewichtsprozent gefunden, so ist nach Maßgabe der zweiten Spalte der Tafel II die Dichte der Würze $d\left(\frac{15^0}{15^0}\,C\right) = 1\cdot05448.$

1. Tafel

zur Ermittlung des Zuckergehaltes wässeriger Zuckerlösungen aus der Dichte bei 15° C.

Dichte bei 15° C $d\frac{15°}{15°}C$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\frac{15°}{15°}C$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\frac{15°}{15°}C$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·0000	**0·00**	**0·00**	**1·0040**	**1·03**	**1·03**	**1·0080**	**2·05**	**2·07**
1	0·03	0·03	1	1·05	1·05	1	2·08	2·09
2	0·05	0·05	2	1·08	1·08	2	2·10	2·12
3	0·08	0·08	3	1·11	1·11	3	2·13	2·14
4	0·10	0·10	4	1·13	1·13	4	2·15	2·17
5	0·13	0·13	5	1·16	1·16	5	2·18	2·19
6	0·15	0·15	6	1·18	1·18	6	2·20	2·22
7	0·18	0·18	7	1·21	1·21	7	2·23	2·25
8	0·21	0·21	8	1·23	1·24	8	2·25	2·27
9	0·23	0·23	9	1·26	1·26	9	2·28	2·30
1·0010	**0·26**	**0·26**	**1·0050**	**1·28**	**1·29**	**1·0090**	**2·31**	**2·32**
1	0·28	0·28	1	1·31	1·32	1	2·33	2·35
2	0·31	0·31	2	1·34	1·34	2	2·36	2·38
3	0·34	0·34	3	1·36	1·37	3	2·38	2·40
4	0·36	0·36	4	1·39	1·39	4	2·41	2·43
5	0·39	0·39	5	1·41	1·42	5	2·43	2·45
6	0·41	0·41	6	1·44	1·45	6	2·46	2·48
7	0·44	0·44	7	1·46	1·47	7	2·48	2·50
8	0·46	0·46	8	1·49	1·50	8	2·51	2·53
9	0·49	0·49	9	1·52	1·52	9	2·53	2·56
1·0020	**0·52**	**0·52**	**1·0060**	**1·54**	**1·55**	**1·0100**	**2·56**	**2·58**
1	0·54	0·54	1	1·57	1·57	1	2·58	2·61
2	0·57	0·57	2	1·59	1·60	2	2·61	2·63
3	0·59	0·59	3	1·62	1·63	3	2·64	2·66
4	0·62	0·62	4	1·64	1·65	4	2·66	2·69
5	0·64	0·64	5	1·67	1·68	5	2·69	2·71
6	0·67	0·67	6	1·69	1·70	6	2·71	2·74
7	0·69	0·69	7	1·72	1·73	7	2·74	2·76
8	0·72	0·72	8	1·75	1·76	8	2·76	2·79
9	0·75	0·75	9	1·77	1·78	9	2·79	2·82
1·0030	**0·77**	**0·77**	**1·0070**	**1·80**	**1·81**	**1·0110**	**2·81**	**2·84**
1	0·80	0·80	1	1·82	1·83	1	2·84	2·87
2	0·82	0·82	2	1·85	1·86	2	2·86	2·89
3	0·85	0·85	3	1·87	1·88	3	2·89	2·92
4	0·87	0·87	4	1·90	1·91	4	2·91	2·94
5	0·90	0·90	5	1·92	1·94	5	2·94	2·97
6	0·93	0·93	6	1·95	1·96	6	2·96	3·00
7	0·95	0·95	7	1·97	1·99	7	2·99	3·02
8	0·98	0·98	8	2·00	2·01	8	3·02	3·05
9	1·00	1·00	9	2·03	2·04	9	3·04	3·07
1·0040	**1·03**	**1·03**	**1·0080**	**2·05**	**2·07**	**1·0120**	**3·07**	**3·10**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·0120	**3·07**	**3·10**	**1·0160**	**4·07**	**4·13**	**1·0200**	**5·07**	**5·17**
1	3·09	3·12	1	4·10	4·16	1	5·10	5·19
2	3·12	3·15	2	4·12	4·19	2	5·12	5·22
3	3·14	3·18	3	4·15	4·21	3	5·15	5·25
4	3·17	3·20	4	4·17	4·24	4	5·17	5·27
5	3·19	3·23	5	4·20	4·26	5	5·20	5·30
6	3·22	3·26	6	4·22	4·29	6	5·22	5·32
7	3·24	3·28	7	4·25	4·31	7	5·25	5·35
8	3·27	3·31	8	4·27	4·34	8	5·27	5·38
9	3·29	3·33	9	4·30	4·37	9	5·30	5·40
1·0130	**3·32**	**3·36**	**1·0170**	**4·32**	**4·39**	**1·0210**	**5·32**	**5·43**
1	3·34	3·38	1	4·35	4·42	1	5·35	5·45
2	3·37	3·41	2	4·37	4·44	2	5·37	5·48
3	3·39	3·43	3	4·40	4·47	3	5·40	5·51
4	3·42	3·46	4	4·42	4·50	4	5·42	5·53
5	3·44	3·49	5	4·45	4·52	5	5·45	5·56
6	3·47	3·51	6	4·47	4·55	6	5·47	5·58
7	3·49	3·54	7	4·50	4·57	7	5·50	5·61
8	3·52	3·56	8	4·52	4·60	8	5·52	5·64
9	3·54	3·59	9	4·55	4·63	9	5·55	5·66
1·0140	**3·57**	**3·62**	**1·0180**	**4·57**	**4·65**	**1·0220**	**5·57**	**5·69**
1	3·59	3·64	1	4·60	4·68	1	5·60	5·71
2	3·62	3·67	2	4·62	4·70	2	5·62	5·74
3	3·65	3·69	3	4·65	4·73	3	5·65	5·77
4	3·67	3·72	4	4·67	4·75	4	5·67	5·79
5	3·70	3·75	5	4·70	4·78	5	5·70	5·82
6	3·72	3·77	6	4·72	4·81	6	5·72	5·84
7	3·75	3·80	7	4·75	4·83	7	5·74	5·87
8	3·77	3·82	8	4·77	4·86	8	5·77	5·89
9	3·80	3·85	9	4·80	4·88	9	5·79	5·92
1·0150	**3·82**	**3·87**	**1·0190**	**4·82**	**4·91**	**1·0230**	**5·82**	**5·94**
1	3·85	3·90	1	4·85	4·94	1	5·84	5·97
2	3·87	3·93	2	4·87	4·96	2	5·87	6·00
3	3·90	3·95	3	4·90	4·99	3	5·89	6·02
4	3·92	3·98	4	4·92	5·01	4	5·91	6·05
5	3·95	4·00	5	4·95	5·04	5	5·94	6·07
6	3·97	4·03	6	4·97	5·06	6	5·96	6·10
7	4·00	4·06	7	5·00	5·09	7	5·99	6·12
8	4·02	4·08	8	5·02	5·11	8	6·01	6·15
9	4·05	4·11	9	5·05	5·14	9	6·04	6·18
1·0160	**4·07**	**4·13**	**1·0200**	**5·07**	**5·17**	**1·0240**	**6·06**	**6·20**

Dichte bei 15° C $d \frac{15°}{15°} C$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d \frac{15°}{15°} C$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d \frac{15°}{15°} C$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·0240	**6·06**	**6·20**	**1·0280**	**7·05**	**7·24**	**1·0320**	**8·02**	**8·27**
1	6·09	6·23	1	7·07	7·26	1	8·05	8·30
2	6·11	6·25	2	7·10	7·29	2	8·07	8·33
3	6·14	6·28	3	7·12	7·32	3	8·10	8·35
4	6·16	6·31	4	7·15	7·34	4	8·12	8·38
5	6·19	6·33	5	7·17	7·37	5	8·15	8·40
6	6·21	6·36	6	7·20	7·39	6	8·17	8·43
7	6·24	6·38	7	7·22	7·42	7	8·20	8·46
8	6·26	6·41	8	7·24	7·45	8	8·22	8·48
9	6·29	6·44	9	7·27	7·47	9	8·24	8·51
1·0250	**6·31**	**6·46**	**1·0290**	**7·29**	**7·50**	**1·0330**	**8·27**	**8·53**
1	6·33	6·49	1	7·32	7·52	1	8·29	8·56
2	6·36	6·51	2	7·34	7·55	2	8·32	8·59
3	6·38	6·54	3	7·37	7·58	3	8·34	8·61
4	6·41	6·56	4	7·39	7·60	4	8·37	8·64
5	6·43	6·59	5	7·41	7·63	5	8·39	8·66
6	6·46	6·62	6	7·44	7·65	6	8·41	8·69
7	6·48	6·64	7	7·46	7·68	7	8·44	8·72
8	6·51	6·67	8	7·49	7·70	8	8·46	8·74
9	6·53	6·70	9	7·51	7·73	9	8·49	8·77
1·0260	**6·56**	**6·72**	**1·0300**	**7·54**	**7·76**	**1·0340**	**8·51**	**8·79**
1	6·58	6·75	1	7·56	7·78	1	8·54	8·82
2	6·60	6·77	2	7·59	7·81	2	8·56	8·85
3	6·63	6·80	3	7·61	7·83	3	8·59	8·87
4	6·65	6·82	4	7·64	7·86	4	8·61	8·90
5	6·68	6·85	5	7·66	7·89	5	8·63	8·92
6	6·70	6·88	6	7·69	7·91	6	8·66	8·95
7	6·73	6·90	7	7·71	7·94	7	8·68	8·97
8	6·75	6·93	8	7·73	7·97	8	8·71	9·00
9	6·78	6·95	9	7·76	7·99	9	8·73	9·03
1·0270	**6·80**	**6·98**	**1·0310**	**7·78**	**8·02**	**1·0350**	**8·75**	**9·05**
1	6·83	7·01	1	7·81	8·04	1	8·78	9·08
2	6·85	7·03	2	7·83	8·07	2	8·80	9·10
3	6·88	7·06	3	7·85	8·09	3	8·83	9·13
4	6·90	7·08	4	7·88	8·12	4	8·85	9·16
5	6·92	7·11	5	7·90	8·14	5	8·88	9·18
6	6·95	7·13	6	7·93	8·17	6	8·90	9·21
7	6·97	7·16	7	7·95	8·20	7	8·92	9·23
8	7·00	7·19	8	7·98	8·22	8	8·95	9·26
9	7·02	7·21	9	8·00	8·25	9	8·97	9·29
1·0280	**7·05**	**7·24**	**1·0320**	**8·02**	**8·27**	**1·0360**	**9·00**	**9·31**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $\left(d\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·0360	**9·00**	**9·31**	**1·0400**	**9·96**	**10·35**	**1·0440**	**10·92**	**11·39**
1	9·02	9·34	1	9·98	10·37	1	10·94	11·42
2	9·04	9·36	2	10·01	10·40	2	10·97	11·44
3	9·07	9·39	3	10·03	10·43	3	10·99	11·47
4	9·09	9·42	4	10·06	10·45	4	11·01	11·49
5	9·12	9·44	5	10·08	10·48	5	11·04	11·52
6	9·14	9·47	6	10·10	10·51	6	11·06	11·55
7	9·17	9·49	7	10·13	10·53	7	11·09	11·57
8	9·19	9·52	8	10·15	10·56	8	11·11	11·60
9	9·21	9·55	9	10·18	10·58	9	11·13	11·62
1·0370	**9·24**	**9·57**	**1·0410**	**10·20**	**10·61**	**1·0450**	**11·16**	**11·65**
1	9·26	9·60	1	10·22	10·63	1	11·18	11·68
2	9·29	9·62	2	10·25	10·66	2	11·20	11·70
3	9·31	9·65	3	10·27	10·69	3	11·23	11·73
4	9·33	9·68	4	10·30	10·71	4	11·25	11·75
5	9·36	9·70	5	10·32	10·74	5	11·28	11·78
6	9·38	9·73	6	10·34	10·76	6	11·30	11·81
7	9·41	9·75	7	10·37	10·79	7	11·32	11·83
8	9·43	9·78	8	10·39	10·82	8	11·35	11·86
9	9·45	9·80	9	10·42	10·84	9	11·37	11·88
1·0380	**9·48**	**9·83**	**1·0420**	**10·44**	**10·87**	**1·0460**	**11·40**	**11·91**
1	9·50	9·86	1	10·46	10·90	1	11·42	11·94
2	9·53	9·88	2	10·49	10·92	2	11·44	11·96
3	9·55	9·91	3	10·51	10·95	3	11·47	11·99
4	9·58	9·93	4	10·54	10·97	4	11·49	12·01
5	9·60	9·96	5	10·56	11·00	5	11·51	12·04
6	9·62	9·99	6	10·58	11·03	6	11·54	12·06
7	9·65	10·01	7	10·61	11·05	7	11·56	12·09
8	9·67	10·04	8	10·63	11·08	8	11·58	12·12
9	9·70	10·06	9	10·65	11·10	9	11·61	12·14
1·0390	**9·72**	**10·09**	**1·0430**	**10·68**	**11·13**	**1·0470**	**11·63**	**12·17**
1	9·74	10·11	1	10·70	11·15	1	11·65	12·19
2	9·77	10·14	2	10·73	11·18	2	11·68	12·22
3	9·79	10·17	3	10·75	11·21	3	11·70	12·25
4	9·82	10·19	4	10·77	11·23	4	11·73	12·27
5	9·84	10·22	5	10·80	11·26	5	11·75	12·30
6	9·86	10·25	6	10·82	11·28	6	11·77	12·32
7	9·89	10·27	7	10·85	11·31	7	11·80	12·35
8	9·91	10·30	8	10·87	11·34	8	11·82	12·38
9	9·94	10·32	9	10·90	11·36	9	11·85	12·40
1·0400	**9·96**	**10·35**	**1·0440**	**10·92**	**11·39**	**1·0480**	**11·87**	**12·43**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·0480	**11·87**	**12·43**	**1·0520**	**12·81**	**13·47**	**1·0560**	**13·75**	**14·51**
1	11·89	12·45	1	12·84	13·49	1	13·78	14·54
2	11·92	12·48	2	12·86	13·52	2	13·80	14·56
3	11·94	12·51	3	12·88	13·55	3	13·82	14·59
4	11·96	12·53	4	12·91	13·57	4	13·85	14·51
5	11·99	12·56	5	12·93	13·60	5	13·87	14·64
6	12·01	12·58	6	12·95	13·62	6	13·89	14·67
7	12·03	12·61	7	12·98	13·65	7	13·92	14·69
8	12·06	12·64	8	13·00	13·68	8	13·94	14·72
9	12·08	12·66	9	13·03	13·70	9	13·96	14·74
1·0490	**12·10**	**12·69**	**1·0530**	**13·05**	**13·73**	**1·0570**	**13·99**	**14·77**
1	12·13	12·71	1	13·07	13·75	1	14·01	14·78
2	12·15	12·74	2	13·10	13·78	2	14·03	14·82
3	12·18	12·77	3	13·12	13·80	3	14·06	14·85
4	12·20	12·79	4	13·14	13·83	4	14·08	14·87
5	12·22	12·82	5	13·17	13·86	5	14·10	14·90
6	12·25	12·84	6	13·19	13·89	6	14·13	14·93
7	12·27	12·87	7	13·21	13·91	7	14·15	14·95
8	12·30	12·90	8	13·24	13·94	8	14·17	14·98
9	12·32	12·92	9	13·26	13·96	9	14·20	15·00
1·0500	**12·34**	**12·95**	**1·0540**	**13·28**	**13·99**	**1·0580**	**14·22**	**15·03**
1	12·37	12·97	1	13·31	14·01	1	14·24	15·06
2	12·39	13·00	2	13·33	14·04	2	14·27	15·08
3	12·41	13·03	3	13·35	14·07	3	14·29	15·11
4	12·44	13·05	4	13·38	14·09	4	14·31	15·14
5	12·46	13·08	5	13·40	14·12	5	14·34	15·16
6	12·48	13·10	6	13·42	14·14	6	14·36	15·19
7	12·51	13·13	7	13·45	14·17	7	14·38	15·22
8	12·53	13·15	8	13·47	14·20	8	14·41	15·24
9	12·55	13·18	9	13·50	14·22	9	14·43	15·27
1·0510	**12·58**	**13·21**	**1·0550**	**13·52**	**14·25**	**1·0590**	**14·45**	**15·29**
1	12·60	13·23	1	13·54	14·28	1	14·48	15·32
2	12·63	13·26	2	13·57	14·30	2	14·50	15·35
3	12·65	13·29	3	13·59	14·33	3	14·52	15·37
4	12·67	13·31	4	13·61	14·35	4	14·55	15·40
5	12·70	13·34	5	13·63	14·38	5	14·57	15·42
6	12·72	13·36	6	13·66	14·41	6	14·59	15·45
7	12·74	13·39	7	13·68	14·43	7	14·62	15·48
8	12·77	13·42	8	13·70	14·46	8	14·64	15·50
9	12·79	13·44	9	13·73	14·48	9	14·66	15·53
1·0520	**12·81**	**13·47**	**1·0560**	**13·75**	**14·51**	**1·0600**	**14·69**	**15·55**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·0600	**14·69**	**15·55**	**1·0640**	**15·61**	**16·60**	**1·0680**	**16·53**	**17·64**
1	14·71	15·58	1	15·63	16·62	1	16·55	17·67
2	14·73	15·61	2	15·66	16·65	2	16·58	17·69
3	14·76	15·63	3	15·68	16·68	3	16·60	17·72
4	14·78	15·66	4	15·70	16·70	4	16·62	17·75
5	14·80	15·68	5	15·73	16·73	5	16·65	17·77
6	14·83	15·71	6	15·75	16·75	6	16·67	17·80
7	14·85	15·74	7	15·77	16·78	7	16·69	17·83
8	14·87	15·76	8	15·80	16·80	8	16·72	17·85
9	14·89	15·79	9	15·82	16·83	9	16·74	17·88
1·0610	**14·92**	**15·81**	**1·0650**	**15·84**	**16·86**	**1·0690**	**16·76**	**17·90**
1	14·94	15·84	1	15·87	16·88	1	16·78	17·93
2	14·96	15·87	2	15·89	16·91	2	16·81	17·95
3	14·99	15·89	3	15·91	16·94	3	16·83	17·98
4	15·01	15·92	4	15·93	16·96	4	16·85	18·01
5	15·03	15·94	5	15·96	16·99	5	16·88	18·03
6	15·06	15·97	6	15·98	17·01	6	16·90	18·06
7	15·08	16·00	7	16·00	17·04	7	16·92	18·08
8	15·10	16·02	8	16·03	17·07	8	16·94	18·11
9	15·13	16·04	9	16·05	17·09	9	16·97	18·14
1·0620	**15·15**	**16·07**	**1·0660**	**16·07**	**17·12**	**1·0700**	**16·99**	**18·16**
1	15·17	16·10	1	16·10	17·14	1	17·01	18·19
2	15·20	16·13	2	16·12	17·17	2	17·03	18·22
3	15·22	16·15	3	16·14	17·20	3	17·06	18·24
4	15·24	16·18	4	16·16	17·22	4	17·08	18·27
5	15·27	16·21	5	16·19	17·25	5	17·10	18·30
6	15·29	16·23	6	16·21	17·27	6	17·13	18·32
7	15·31	16·26	7	16·23	17·30	7	17·15	18·35
8	15·33	16·28	8	16·26	17·33	8	17·17	18·37
9	15·36	16·31	9	16·28	17·35	9	17·20	18·40
1·0630	**15·38**	**16·33**	**1·0670**	**16·30**	**17·38**	**1·0710**	**17·22**	**18·43**
1	15·40	16·36	1	16·33	17·41	1	17·24	18·45
2	15·43	16·39	2	16·35	17·43	2	17·26	18·48
3	15·45	16·41	3	16·37	17·46	3	17·29	18·50
4	15·47	16·44	4	16·39	17·48	4	17·31	18·53
5	15·50	16·47	5	16·42	17·51	5	17·33	18·56
6	15·52	16·49	6	16·44	17·54	6	17·35	18·58
7	15·54	16·52	7	16·46	17·56	7	17·38	18·61
8	15·57	16·54	8	16·49	17·59	8	17·40	18·63
9	15·59	16·57	9	16·51	17·62	9	17·42	18·66
1·0640	**15·61**	**16·60**	**1·0680**	**16·53**	**17·64**	**1·0720**	**17·45**	**18·69**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·0720	**17·45**	**18·69**	**1·0760**	**18·35**	**19·73**	**1·0800**	**19·26**	**20·78**
1	17·47	18·71	1	18·38	19·76	1	19·28	20·81
2	17·49	18·74	2	18·40	19·79	2	19·30	20·83
3	17·51	18·76	3	18·42	19·81	3	19·32	20·86
4	17·54	18·79	4	18·45	19·84	4	19·35	20·89
5	17·56	18·82	5	18·47	19·86	5	19·37	20·91
6	17·58	18·84	6	18·49	19·89	6	19·39	20·94
7	17·61	18·87	7	18·51	19·92	7	19·42	20·96
8	17·63	18·90	8	18·54	19·94	8	19·44	20·99
9	17·65	18·92	9	18·56	19·97	9	19·46	21·02
1·0730	**17·68**	**18·95**	**1·0770**	**18·58**	**20·00**	**1·0810**	**19·48**	**21·04**
1	17·70	18·97	1	18·60	20·02	1	19·50	21·07
2	17·72	19·00	2	18·63	20·05	2	19·53	21·10
3	17·74	19·03	3	18·65	20·07	3	19·55	21·12
4	17·76	19·05	4	18·67	20·10	4	19·57	21·15
5	17·79	19·08	5	18·69	20·12	5	19·60	21·17
6	17·81	19·10	6	18·72	20·15	6	19·62	21·20
7	17·83	19·13	7	18·74	20·18	7	19·64	21·23
8	17·85	19·16	8	18·76	20·20	8	19·66	21·25
9	17·88	19·18	9	18·78	20·23	9	19·68	21·28
1·0740	**17·90**	**19·21**	**1·0780**	**18·81**	**20·26**	**1·0820**	**19·71**	**21·31**
1	17·92	19·23	1	18·83	20·28	1	19·73	21·33
2	17·95	19·26	2	18·85	20·31	2	19·75	21·36
3	17·97	19·29	3	18·88	20·34	3	19·78	21·38
4	17·99	19·31	4	18·90	20·36	4	19·80	21·41
5	18·01	19·34	5	18·92	20·39	5	19·82	21·44
6	18·04	19·37	6	18·94	20·41	6	19·84	21·46
7	18·06	19·39	7	18·97	20·44	7	19·86	21·49
8	18·08	19·42	8	18·99	20·47	8	19·89	21·52
9	18·10	19·44	9	19·01	20·49	9	19·91	21·54
1·0750	**18·13**	**19·47**	**1·0790**	**19·03**	**20·52**	**1·0830**	**19·93**	**21·57**
1	18·15	19·50	1	19·06	20·55	1	19·95	21·59
2	18·17	19·52	2	19·08	20·57	2	19·98	21·62
3	18·20	19·55	3	19·10	20·60	3	20·00	21·65
4	18·22	19·58	4	19·12	20·62	4	20·02	21·67
5	18·24	19·60	5	19·15	20·65	5	20·04	21·70
6	18·26	19·63	6	19·17	20·68	6	20·07	21·73
7	18·29	19·65	7	19·19	20·70	7	20·09	21·75
8	18·31	19·68	8	19·21	20·73	8	20·11	21·78
9	18·33	19·71	9	19·24	20·75	9	20·13	21·80
1·0760	**18·35**	**19·73**	**1·0800**	**19·26**	**20·78**	**1·0840**	**20·16**	**21·83**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·0840	**20·16**	**21·83**	**1·0880**	**21·05**	**22·88**	**1·0920**	**21·94**	**23·93**
1	20·18	21·86	1	21·07	22·91	1	21·96	23·96
2	20·20	21·88	2	21·09	22·93	2	21·98	23·99
3	20·22	21·91	3	21·12	22·96	3	22·00	24·01
4	20·25	21·94	4	21·14	22·99	4	22·02	24·04
5	20·27	21·96	5	21·16	23·01	5	22·05	24·07
6	20·29	21·99	6	21·18	23·04	6	22·07	24·09
7	20·31	22·02	7	21·20	23·07	7	22·09	24·12
8	20·34	22·04	8	21·23	23·09	8	22·11	24·14
9	20·36	22·07	9	21·25	23·12	9	22·13	24·17
1·0850	**20·38**	**22·09**	**1·0890**	**21·27**	**23·14**	**1·0930**	**22·16**	**24·20**
1	20·40	22·12	1	21·29	23·17	1	22·18	24·22
2	20·42	22·15	2	21·32	23·20	2	22·20	24·25
3	20·45	22·17	3	21·34	23·22	3	22·22	24·27
4	20·47	22·20	4	21·36	23·25	4	22·24	24·30
5	20·49	22·22	5	21·38	23·28	5	22·27	24·33
6	20·51	22·25	6	21·40	23·30	6	22·29	24·35
7	20·54	22·28	7	21·43	23·33	7	22·31	24·38
8	20·56	22·30	8	21·45	23·35	8	22·33	24·41
9	20·58	22·33	9	21·47	23·38	9	22·36	24·43
1·0860	**20·60**	**22·36**	**1·0900**	**21·49**	**23·41**	**1·0940**	**22·38**	**24·46**
1	20·63	22·38	1	21·52	23·43	1	22·40	24·49
2	20·65	22·41	2	21·54	23·46	2	22·42	24·51
3	20·67	22·43	3	21·56	23·49	3	22·44	24·54
4	20·69	22·46	4	21·58	23·51	4	22·47	24·57
5	20·72	22·49	5	21·60	23·54	5	22·49	24·59
6	20·74	22·51	6	21·63	23·57	6	22·51	24·62
7	20·76	22·54	7	21·65	23·59	7	22·53	24·64
8	20·78	22·57	8	21·67	23·62	8	22·55	24·67
9	20·80	22·59	9	21·69	23·65	9	22·58	24·70
1·0870	**20·83**	**22·62**	**1·0910**	**21·72**	**23·67**	**1·0950**	**22·60**	**24·72**
1	20·85	22·65	1	21·74	23·70	1	22·62	24·75
2	20·87	22·67	2	21·76	23·72	2	22·64	24·78
3	20·89	22·70	3	21·78	23·75	3	22·66	24·80
4	20·92	22·72	4	21·80	23·77	4	22·68	24·83
5	20·94	22·75	5	21·82	23·80	5	22·71	24·85
6	20·96	22·78	6	21·85	23·83	6	22·73	24·88
7	20·98	22·80	7	21·87	23·85	7	22·75	24·91
8	21·00	22·83	8	21·89	23·88	8	22·77	24·93
9	21·03	22·86	9	21·91	23·91	9	22·80	24·96
1·0880	**21·05**	**22·88**	**1·0920**	**21·94**	**23·93**	**1·0960**	**22·82**	**24·99**

Dichte bei 15° C d $\frac{15}{15}$ C	Gewichts-prozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C d $\frac{15}{15}$ C	Gewichts-prozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C d $\frac{15}{15}$ C	Gewichts-prozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·0960	**22·82**	**24·99**	**1·1000**	**23·69**	**26·04**	**1·1040**	**24·56**	**27·09**
1	22·84	25·01	1	23·71	26·06	1	24·58	27·12
2	22·86	25·04	2	23·73	26·09	2	24·60	27·15
3	22·88	25·07	3	23·76	26·12	3	24·63	27·17
4	22·90	25·09	4	23·78	26·14	4	24·65	27·20
5	22·93	25·12	5	23·80	26·17	5	24·67	27·22
6	22·95	25·14	6	23·82	26·20	6	24·69	27·25
7	22·97	25·17	7	23·84	26·22	7	24·71	27·27
8	22·99	25·20	8	23·87	26·25	8	24·73	27·30
9	23·01	25·22	9	23·89	26·27	9	24·75	27·33
1·0970	**23·04**	**25·25**	**1·1010**	**23·91**	**26·30**	**1·1050**	**24·78**	**27·35**
1	23·06	25·28	1	23·93	26·33	1	24·80	27·38
2	23·08	25·30	2	23·95	26·35	2	24·82	27·41
3	23·10	25·33	3	23·97	26·38	3	24·84	27·43
4	23·12	25·36	4	24·00	26·41	4	24·86	27·46
5	23·15	25·38	5	24·02	26·43	5	24·88	27·49
6	23·17	25·41	6	24·04	26·46	6	24·91	27·51
7	23·19	25·43	7	24·06	26·49	7	24·93	27·54
8	23·21	25·46	8	24·08	26·51	8	24·95	27·57
9	23·23	25·49	9	24·10	26·54	9	24·97	27·59
1·0980	**23·25**	**25·51**	**1·1020**	**24·13**	**26·56**	**1·1060**	**24·99**	**27·62**
1	23·28	25·54	1	24·15	26·59	1	25·01	27·65
2	23·30	25·56	2	24·17	26·62	2	25·04	27·67
3	23·32	25·59	3	24·19	26·64	3	25·06	27·70
4	23·34	25·62	4	24·21	26·67	4	25·08	27·72
5	23·36	25·64	5	24·23	26·70	5	25·10	27·75
6	23·39	25·67	6	24·26	26·72	6	25·12	27·78
7	23·41	25·70	7	24·28	26·75	7	25·14	27·80
8	23·43	25·72	8	24·30	26·78	8	25·17	27·83
9	23·45	25·75	9	24·32	26·80	9	25·19	27·86
1·0990	**23·47**	**25·78**	**1·1030**	**24·34**	**26·83**	**1·1070**	**25·21**	**27·88**
1	23·50	25·80	1	24·37	26·85	1	25·23	27·91
2	23·52	25·83	2	24·39	26·88	2	25·25	27·93
3	23·54	25·85	3	24·41	26·91	3	25·27	27·96
4	23·56	25·88	4	24·43	26·93	4	25·29	27·99
5	23·58	25·91	5	24·45	26·96	5	25·32	28·01
6	23·60	25·93	6	24·47	26·99	6	25·34	28·04
7	23·63	25·96	7	24·50	27·01	7	25·36	28·07
8	23·65	25·99	8	24·52	27·04	8	25·38	28·09
9	23·67	26·01	9	24·54	27·07	9	25·40	28·12
1·1000	**23·69**	**26·04**	**1·1040**	**24·56**	**27·09**	**1·1080**	**25·42**	**28·15**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·1080	**25·42**	**28·15**	**1·1120**	**26·28**	**29·20**	**1·1160**	**27·13**	**30·26**
1	25·44	28·17	1	26·30	29·23	1	27·16	30·28
2	25·47	28·20	2	26·32	29·25	2	27·18	30·31
3	25·49	28·22	3	26·35	29·28	3	27·20	30·34
4	25·51	28·25	4	26·37	29·31	4	27·22	30·36
5	25·53	28·28	5	26·39	29·33	5	27·24	30·39
6	25·55	28·30	6	26·41	29·36	6	27·26	30·41
7	25·57	28·33	7	26·43	29·39	7	27·28	30·44
8	25·60	28·36	8	26·45	29·41	8	27·30	30·47
9	25·62	28·38	9	26·47	29·44	9	27·33	30·49
1·1090	**25·64**	**28·41**	**1·1130**	**26·50**	**29·47**	**1·1170**	**27·35**	**30·52**
1	25·66	28·43	1	26·52	29·49	1	27·37	30·55
2	25·68	28·46	2	26·54	29·52	2	27·39	30·57
3	25·70	28·49	3	26·56	29·54	3	27·41	30·60
4	25·72	28·51	4	26·58	29·57	4	27·43	30·63
5	25·75	28·54	5	26·60	29·60	5	27·45	30·65
6	25·77	28·57	6	26·62	29·62	6	27·47	30·68
7	25·79	28·59	7	26·64	29·65	7	27·50	30·71
8	25·81	28·62	8	26·67	29·68	8	27·52	30·73
9	25·83	28·65	9	26·69	29·70	9	27·54	30·76
1·1100	**25·85**	**28·67**	**1·1140**	**26·71**	**29·73**	**1·1180**	**27·56**	**30·79**
1	25·87	28·70	1	26·73	29·76	1	27·58	30·81
2	25·90	28·73	2	26·75	29·78	2	27·60	30·84
3	25·92	28·75	3	26·77	29·81	3	27·62	30·86
4	25·94	28·78	4	26·79	29·83	4	27·64	30·89
5	25·96	28·81	5	26·81	29·86	5	27·66	30·92
6	25·98	28·83	6	26·84	29·89	6	27·69	30·94
7	26·00	28·86	7	26·86	29·91	7	27·71	30·97
8	26·03	28·88	8	26·88	29·94	8	27·73	31·00
9	26·05	28·91	9	26·90	29·96	9	27·75	31·02
1·1110	**26·07**	**28·94**	**1·1150**	**26·92**	**29·99**	**1·1190**	**27·77**	**31·05**
1	26·09	28·96	1	26·94	30·02	1	27·79	31·08
2	26·11	28·99	2	26·96	30·04	2	27·81	31·10
3	26·13	29·02	3	26·99	30·07	3	27·83	31·13
4	26·15	29·04	4	27·01	30·10	4	27·86	31·16
5	26·17	29·07	5	27·03	30·12	5	27·88	31·18
6	26·20	29·09	6	27·05	30·15	6	27·90	31·21
7	26·22	29·12	7	27·07	30·18	7	27·92	31·23
8	26·24	29·15	8	27·09	30·20	8	27·94	31·26
9	26·26	29·17	9	27·11	30·23	9	27·96	31·29
1·1120	**26·28**	**29·20**	**1·1160**	**27·13**	**30·26**	**1·1200**	**27·98**	**31·31**

Dichte bei 15° C $d \frac{15}{15}$ C	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d \frac{15}{15}$ C	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d \frac{15}{15}$ C	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·1200	**27·98**	**31·31**	**1·1240**	**28·82**	**32·37**	**1·1280**	**29·66**	**33·43**
1	28·00	31·34	1	28·84	32·40	1	29·68	33·46
2	28·02	31·37	2	28·87	32·42	2	29·70	33·48
3	28·04	31·39	3	28·89	32·45	3	29·73	33·51
4	28·07	31·42	4	28·91	32·48	4	29·75	33·54
5	28·09	31·45	5	28·93	32·50	5	29·77	33·56
6	28·11	31·47	6	28·95	32·53	6	29·79	33·59
7	28·13	31·50	7	28·97	32·56	7	29·81	33·62
8	28·15	31·53	8	28·99	32·58	8	29·83	33·64
9	28·17	31·55	9	29·01	32·61	9	29·85	33·67
1·1210	**28·19**	**31·58**	**1·1250**	**29·03**	**32·64**	**1·1290**	**29·87**	**33·70**
1	28·21	31·60	1	29·06	32·66	1	29·89	33·72
2	28·24	31·63	2	29·08	32·69	2	29·91	33·75
3	28·26	31·66	3	29·10	32·72	3	29·93	33·78
4	28·28	31·68	4	29·12	32·74	4	29·95	33·80
5	28·30	31·71	5	29·14	32·77	5	29·97	33·83
6	28·32	31·74	6	29·16	32·80	6	30·00	33·85
7	28·34	31·76	7	29·18	32·82	7	30·02	33·88
8	28·36	31·79	8	29·20	32·85	8	30·04	33·91
9	28·38	31·82	9	29·22	32·87	9	30·06	33·94
1·1220	**28·40**	**31·84**	**1·1260**	**29·24**	**32·90**	**1·1300**	**30·08**	**33·96**
1	28·43	31·87	1	29·26	32·93	1	30·10	33·99
2	28·45	31·90	2	29·29	32·95	2	30·12	34·01
3	28·47	31·92	3	29·31	32·98	3	30·14	34·04
4	28·49	31·95	4	29·33	33·01	4	30·16	34·06
5	28·51	31·97	5	29·35	33·03	5	30·18	34·09
6	28·53	32·00	6	29·37	33·06	6	30·20	34·12
7	28·55	32·03	7	29·39	33·08	7	30·22	34·14
8	28·57	32·05	8	29·41	33·11	8	30·24	34·17
9	28·59	32·08	9	29·43	33·14	9	30·27	34·20
1·1230	**28·61**	**32·11**	**1·1270**	**29·45**	**33·17**	**1·1310**	**30·29**	**34·23**
1	28·64	32·13	1	29·47	33·19	1	30·31	34·25
2	28·66	32·16	2	29·50	33·22	2	30·33	34·28
2	28·68	32·19	3	29·52	33·25	3	30·35	34·31
4	28·70	32·21	4	29·54	33·27	4	30·37	34·33
5	28·72	32·24	5	29·56	33·30	5	30·39	34·36
6	28·74	32·26	6	29·58	33·33	6	30·41	34·39
7	28·76	32·29	7	29·60	33·35	7	30·43	34·41
8	28·78	32·32	8	29·62	33·38	8	30·45	34·43
9	28·80	32·34	9	29·64	33·40	9	30·47	34·46
1·1240	**28·82**	**32·37**	**1·1280**	**29·66**	**33·43**	**1·1320**	**30·49**	**34·49**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·1320	**30·49**	**34·49**	**1·1360**	**31·32**	**35·55**	**1·1400**	**32·14**	**36·61**
1	30·52	34·52	1	31·34	35·58	1	32·17	36·64
2	30·54	34·55	2	31·36	35·60	2	32·19	36·67
3	30·56	34·57	3	31·38	35·63	3	32·21	36·70
4	30·58	34·60	4	31·40	35·66	4	32·23	36·72
5	30·60	34·63	5	31·43	35·69	5	32·25	36·75
6	30·62	34·65	6	31·45	35·72	6	32·27	36·78
7	30·64	34·68	7	31·47	35·74	7	32·29	36·80
8	30·66	34·70	8	31·49	35·77	8	32·31	36·83
9	30·68	34·73	9	31·51	35·79	9	32·33	36·85
1·1330	**30·70**	**34·75**	**1·1370**	**31·53**	**35·82**	**1·1410**	**32·35**	**36·88**
1	60·72	34·78	1	31·55	35·85	1	32·37	36·91
2	30·74	34·81	2	31·57	35·87	2	32·39	36·93
3	30·76	34·83	3	31·59	35·90	3	32·41	36·96
4	30·78	34·86	4	31·61	35·92	4	32·43	36·98
5	30·81	34·89	5	31·63	35·95	5	32·45	37·01
6	30·83	34·92	6	31·65	35·97	6	32·47	37·04
7	30·85	34·95	7	31·67	36·00	7	32·49	37·06
8	30·87	34·97	8	31·69	36·03	8	32·51	37·09
9	30·89	35·00	9	31·71	36·05	9	32·53	37·11
1·1340	**30·91**	**35·02**	**1·1380**	**31·73**	**36·08**	**1·1420**	**32·55**	**37·14**
1	30·93	35·05	1	31·76	36·11	1	32·58	37·17
2	30·95	35·07	2	31·78	36·14	2	32·60	37·20
3	30·97	35·10	3	31·80	36·17	3	32·62	37·23
4	30·99	35·13	4	31·82	36·19	4	32·64	37·26
5	31·01	35·15	5	31·84	36·22	5	32·66	37·28
6	31·03	35·18	6	31·86	36·25	6	32·68	37·31
7	31·05	35·21	7	31·88	36·27	7	32·70	37·34
8	31·07	35·23	8	31·90	36·30	8	32·72	37·36
9	31·10	35·26	9	31·92	36·32	9	32·74	37·39
1·1350	**31·12**	**35·29**	**1·1390**	**31·94**	**36·35**	**1·1430**	**32·76**	**37·41**
1	31·14	35·32	1	31·96	36·38	1	32·78	37·44
2	31·16	35·34	2	31·98	36·40	2	32·80	37·47
3	31·18	35·37	3	32·00	36·43	3	32·82	37·49
4	31·20	35·39	4	32·02	36·45	4	32·84	37·52
5	31·22	35·42	5	32·04	36·48	5	32·86	37·54
6	31·24	35·45	6	32·06	36·50	6	32·88	37·57
7	31·26	35·47	7	32·08	36·53	7	32·90	37·60
8	31·28	35·50	8	32·10	36·56	8	32·92	37·62
9	31·30	35·52	9	32·12	36·58	9	32·94	37·65
1·1360	**31·32**	**35·55**	**1·1400**	**32·14**	**36·61**	**1·1440**	**32·96**	**37·67**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^{\circ}}{15^{\circ}}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^{\circ}}{15^{\circ}}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^{\circ}}{15^{\circ}}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·1440	**32·96**	**37·67**	**1·1480**	**33·78**	**38·75**	**1·1520**	**34·58**	**39·80**
1	32·98	37·70	1	33·80	38·77	1	34·60	39·83
2	33·00	37·73	2	33·82	38·80	2	34·62	39·86
3	33·02	37·75	3	33·84	38·82	3	34·65	39·89
4	33·04	37·78	4	33·86	38·85	4	34·67	39·92
5	33·07	37·81	5	33·88	38·88	5	34·69	39·95
6	33·09	37·84	6	33·90	38·90	6	34·71	39·97
7	33·11	37·87	7	33·92	38·93	7	34·73	40·00
8	33·13	37·89	8	33·94	38·96	8	34·75	40·02
9	33·15	37·92	9	33·96	38·98	9	34·77	40·05
1·1450	**33·17**	**37·95**	**1·1490**	**33·98**	**39·01**	**1·1530**	**34·79**	**40·08**
1	33·19	37·97	1	34·00	39·04	1	34·81	40·11
2	33·21	38·00	2	34·02	39·06	2	34·83	40·13
3	33·23	38·03	3	34·04	39·09	3	34·85	40·16
4	33·25	38·05	4	34·06	39·11	4	34·87	40·18
5	33·27	38·08	5	34·08	39·14	5	34·89	40·21
6	33·29	38·10	6	34·10	39·17	6	34·91	40·24
7	33·31	38·13	7	34·12	39·19	7	34·93	40·27
8	33·33	38·16	8	34·14	39·22	8	34·95	40·29
9	33·35	38·18	9	34·16	39·25	9	34·97	40·32
1·1460	**33·37**	**38·21**	**1·1500**	**34·18**	**39·27**	**1·1540**	**34·99**	**40·34**
1	33·39	38·24	1	34·20	39·30	1	35·01	40·37
2	33·41	38·26	2	34·22	39·33	2	35·03	40·40
3	33·43	38·29	3	34·24	39·35	3	35·05	40·42
4	33·45	38·31	4	34·26	39·38	4	35·07	40·45
5	33·47	38·34	5	34·28	39·41	5	35·09	40·48
6	33·49	38·37	6	34·30	39·43	6	35·11	40·50
7	33·51	38·39	7	34·32	39·46	7	35·13	40·53
8	33·53	38·42	8	34·34	39·48	8	35·15	40·56
9	33·55	38·45	9	34·36	39·51	9	35·17	40·58
1·1470	**33·57**	**38·47**	**1·1510**	**34·38**	**39·54**	**1·1550**	**35·19**	**40·61**
1	33·59	38·50	1	34·40	39·56	1	35·21	40·64
2	33·61	38·52	2	34·42	39·59	2	35·23	40·66
3	33·63	38·55	3	34·44	39·62	3	35·25	40·69
4	33·65	38·58	4	34·46	39·64	4	35·27	40·72
5	33·68	38·61	5	34·48	39·67	5	35·29	40·74
6	33·70	38·64	6	34·50	39·70	6	35·31	40·77
7	33·72	38·67	7	34·52	39·72	7	35·33	40·80
8	33·74	38·69	8	34·54	39·75	8	35·35	40·82
9	33·76	38·72	9	34·56	39·78	9	35·37	40·85
1·1480	**33·78**	**38·75**	**1·1520**	**34·58**	**39·80**	**1·1560**	**35·39**	**40·88**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^\circ}{15^\circ}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^\circ}{15^\circ}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^\circ}{15^\circ}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·1560	**35·39**	**40·88**	**1·1600**	**36·19**	**41·94**	**1·1640**	**36·98**	**43·01**
1	35·41	40·90	1	36·21	41·97	1	37·00	43·04
2	35·43	40·93	2	36·23	42·00	2	37·02	43·06
3	35·45	40·96	3	36·25	42·02	3	37·04	43·09
4	35·47	40·98	4	36·27	42·05	4	37·06	43·12
5	35·49	41·01	5	36·29	42·08	5	37·08	43·14
6	35·51	41·04	6	36·31	42·11	6	37·10	43·17
7	35·53	41·06	7	36·33	42·13	7	37·12	43·20
8	35·55	41·09	8	36·35	42·16	8	37·14	43·22
9	35·57	41·12	9	36·37	42·19	9	37·16	43·25
1·1570	**35·59**	**41·14**	**1·1610**	**36·39**	**42·21**	**1·1650**	**37·18**	**43·28**
1	35·61	41·17	1	36·41	42·24	1	37·20	43·31
2	35·63	41·20	2	36·43	42·27	2	37·22	43·33
3	35·65	41·22	3	36·45	42·29	3	37·24	43·36
4	35·67	41·25	4	36·47	42·32	4	37·26	43·39
5	35·69	41·28	5	36·49	42·35	5	37·28	43·41
6	35·71	41·30	6	36·51	42·37	6	37·30	43·44
7	35·73	41·33	7	36·53	42·40	7	37·32	43·47
8	35·75	41·36	8	36·55	42·43	8	37·34	43·49
9	35·77	41·38	9	36·57	42·45	9	37·36	43·52
1·1580	**35·79**	**41·41**	**1·1620**	**36·59**	**42·48**	**1·1660**	**37·38**	**43·55**
1	35·81	41·44	1	36·61	42·51	1	37·40	43·57
2	35·83	41·46	2	36·63	42·53	2	37·42	43·60
3	35·85	41·49	3	36·64	42·56	3	37·44	43·63
4	35·87	41·52	4	36·66	42·58	4	37·46	43·66
5	35·89	41·54	5	36·68	42·61	5	37·48	43·68
6	35·91	41·57	6	36·70	42·63	6	37·50	43·71
7	35·93	41·60	7	36·72	42·66	7	37·52	43·74
8	35·95	41·62	8	36·74	42·69	8	37·54	43·76
9	35·97	41·65	9	36·76	42·71	9	37·56	43·79
1·1590	**35·99**	**41·68**	**1·1630**	**36·78**	**42·74**	**1·1670**	**37·58**	**43·82**
1	36·01	41·70	1	36·80	42·77	1	37·60	43·84
2	36·03	41·73	2	36·82	42·79	2	37·61	43·87
3	36·05	41·76	3	36·84	42·82	3	37·63	43·89
4	36·07	41·78	4	36·86	42·85	4	37·65	43·92
5	36·09	41·81	5	36·88	42·87	5	37·67	43·94
6	36·11	41·84	6	36·90	42·90	6	37·69	43·97
7	36·13	41·86	7	36·92	42·93	7	37·71	44·00
8	36·15	41·89	8	36·94	42·96	8	37·73	44·02
9	36·17	41·92	9	36·96	42·98	9	37·75	44·05
1·1600	**36·19**	**41·94**	**1·1640**	**36·98**	**43·01**	**1·1680**	**37·77**	**44·08**

Dichte bei 15° C $d \frac{15°}{15°} C$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d \frac{15°}{15°} C$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d \frac{15°}{15°} C$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·1680	**37·77**	**44·08**	**1·1720**	**38·56**	**45·15**	**1·1760**	**39·34**	**46·22**
1	37·79	44·10	1	38·58	45·18	1	39·36	46·25
2	37·81	44·13	2	38·60	45·21	2	39·38	46·28
3	37·83	44·16	3	38·62	45·24	3	39·40	46·31
4	37·85	44·19	4	38·64	45·26	4	39·42	46·33
5	37·87	44·21	5	38·66	45·29	5	39·44	46·36
6	37·89	44·24	6	38·68	45·32	6	39·46	46·39
7	37·91	44·27	7	38·70	45·34	7	39·48	46·42
8	37·93	44·29	8	38·72	45·37	8	39·50	46·44
9	37·95	44·32	9	38·74	45·40	9	39·52	46·47
1·1690	**37·97**	**44·35**	**1·1730**	**38·76**	**45·42**	**1·1770**	**39·54**	**46·49**
1	37·99	44·38	1	38·77	45·45	1	39·55	46·52
2	38·01	44·40	2	38·79	45·47	2	39·57	46·54
3	38·03	44·43	3	38·81	45·50	3	39·59	46·57
4	38·05	44·46	4	38·83	45·53	4	39·61	46·60
5	38·07	44·49	5	38·85	45·55	5	39·63	46·62
6	38·09	44·51	6	38·87	45·58	6	39·65	46·65
7	38·11	44·54	7	38·89	45·61	7	39·67	46·68
8	38·13	44·57	8	38·91	45·63	8	39·69	46·71
9	38·15	44·59	9	38·93	45·66	9	39·71	46·73
1·1700	**38·17**	**44·62**	**1·1740**	**38·95**	**45·69**	**1·1780**	**39·73**	**46·76**
1	38·19	44·65	1	38·97	45·72	1	39·75	46·79
2	38·21	44·68	2	38·99	45·74	2	39·77	46·82
3	38·23	44·70	3	39·01	45·77	3	39·79	46·84
4	38·25	44·73	4	39·03	45·80	4	39·81	46·87
5	38·26	44·75	5	39·05	45·83	5	39·83	46·90
6	38·28	44·78	6	39·07	45·85	6	39·85	46·93
7	38·30	44·80	7	39·09	45·88	7	39·87	46·95
8	38·32	44·83	8	39·11	45·91	8	39·89	46·98
9	38·34	44·86	9	39·13	45·94	9	39·90	47·00
1·1710	**38·36**	**44·88**	**1·1750**	**39·15**	**45·96**	**1·1790**	**39·92**	**47·03**
1	38·38	44·91	1	39·16	45·98	1	39·94	47·05
2	38·40	44·94	2	39·18	46·01	2	39·96	47·08
3	38·42	44·96	3	39·20	46·03	3	39·98	47·11
4	38·44	44·99	4	39·22	46·06	4	40·00	47·14
5	38·46	45·02	5	39·24	46·09	5	40·02	47·16
6	38·48	45·05	6	39·26	46·12	6	40·04	47·19
7	38·50	45·07	7	39·28	46·14	7	40·06	47·22
8	38·52	45·10	8	39·30	46·17	8	40·08	47·25
9	38·54	45·13	9	39·32	46·20	9	40·10	47·27
1·1720	**38·56**	**45·15**	**1·1760**	**39·34**	**46·22**	**1·1800**	**40·12**	**47·30**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichts-prozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 16° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichts-prozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichts-prozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·1800	**40·12**	**47·30**	**1·1840**	**40·89**	**48·37**	**1·1880**	**41·66**	**49·45**
1	40·14	47·33	1	40·91	48·40	1	41·68	49·48
2	40·16	47·36	2	40·93	48·43	2	41·70	49·51
3	40·18	47·38	3	40·95	48·46	3	41·72	49·53
4	40·20	47·41	4	40·97	48·48	4	41·74	49·56
5	40·22	47·44	5	40·99	48·51	5	41·76	49·59
6	40·23	47·46	6	41·01	48·54	6	41·77	49·61
7	40·25	47·48	7	41·03	48·56	7	41·79	49·64
8	40·27	47·51	8	41·04	48·59	8	41·81	49·66
9	40·29	47·54	9	41·06	48·62	9	41·83	49·69
1·1810	**40·31**	**47·57**	**1·1850**	**41·08**	**48·64**	**1·1890**	**41·85**	**49·72**
1	40·33	47·59	1	41·10	48·67	1	41·87	49·74
2	40·35	47·62	2	41·12	48·69	2	41·89	49·77
3	40·37	47·65	3	41·14	48·72	3	41·91	49·80
4	40·39	47·68	4	41·16	48·75	4	41·93	49·83
5	40·41	47·70	5	41·18	48·78	5	41·95	49·86
6	40·43	47·73	6	41·20	48·81	6	41·97	49·89
7	40·45	47·76	7	41·22	48·83	7	41·99	49·91
8	40·47	47·78	8	41·24	48·86	8	42·00	49·93
9	40·49	47·81	9	41·26	48·89	9	42·02	49·96
1·1820	**40·50**	**47·83**	**1·1860**	**41·28**	**48·91**	**1·1900**	**42·04**	**49·99**
1	40·52	47·86	1	41·29	48·94	1	42·06	50·01
2	40·54	47·89	2	41·31	48·96	2	42·08	50·04
3	40·56	47·91	3	41·33	48·99	3	42·10	50·07
4	40·58	47·94	4	41·35	49·02	4	42·12	50·10
5	40·60	47·97	5	41·37	49·04	5	42·14	50·12
6	40·62	48·00	6	41·39	49·07	6	42·16	50·15
7	40·64	48·02	7	41·41	49·10	7	42·18	50·18
8	40·66	48·05	8	41·43	49·13	8	42·20	50·21
9	40·68	48·08	9	41·45	49·16	9	42·21	50·23
1·1830	**40·70**	**48·11**	**1·1870**	**41·47**	**49·18**	**1·1910**	**42·23**	**50·26**
1	40·72	48·13	1	41·49	49·21	1	42·25	50·29
2	40·74	48·16	2	41·51	49·24	2	42·27	50·31
3	40·76	48·19	3	41·53	49·26	3	42·29	50·34
4	40·77	48·21	4	41·54	49·29	4	42·31	50·37
5	40·79	48·24	5	41·56	49·31	5	42·33	50·39
6	40·81	48·27	6	41·58	49·34	6	42·35	50·42
7	40·83	48·29	7	41·60	49·37	7	42·37	50·45
8	40·85	48·32	8	41·62	49·39	8	42·39	50·48
9	40·87	48·35	9	41·64	49·42	9	42·41	50·50
1·1840	**40·89**	**48·37**	**1·1880**	**41·66**	**49·45**	**1·1920**	**42·42**	**50·53**

Dichte bei 15° C d (15°/15° C)	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C d (15°/15° C)	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C d (15°/15° C)	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·1920	**42·42**	**50·53**	**1·1960**	**43·19**	**51·61**	**1·2000**	**43·94**	**52·68**
1	42·44	50·55	1	43·20	51·63	1	43·96	52·71
2	42·46	50·58	2	43·22	51·66	2	43·98	52·74
3	42·48	50·61	3	43·24	51·68	3	44·00	52·77
4	42·50	50·63	4	43·26	51·71	4	44·02	52·79
5	42·52	50·66	5	43·28	51·74	5	44·03	52·82
6	42·54	50·69	6	43·30	51·77	6	44·05	52·85
7	42·56	50·72	7	43·32	51·80	7	44·07	52·87
8	42·58	50·75	8	43·34	51·82	8	44·09	52·90
9	42·60	50·77	9	43·36	51·85	9	44·11	52·93
1·1930	**42·62**	**50·80**	**1·1970**	**43·37**	**51·87**	**1·2010**	**44·13**	**52·95**
1	42·63	50·82	1	43·39	51·90	1	44·15	52·98
2	42·65	50·85	2	43·41	51·93	2	44·17	53·01
3	42·67	50·87	3	43·43	51·95	3	44·18	53·03
4	42·69	50·90	4	43·45	51·98	4	44·20	53·06
5	42·71	50·93	5	43·47	52·01	5	44·22	53·09
6	42·73	50·96	6	43·49	52·04	6	44·24	53·11
7	42·75	50·99	7	43·51	52·07	7	44·26	53·14
8	42·77	51·02	8	43·53	52·09	8	44·28	53·17
9	42·79	51·04	9	43·54	52·12	9	44·30	53·20
1·1940	**42·81**	**51·07**	**1·1980**	**43·56**	**52·15**	**1·2020**	**44·32**	**53·22**
1	42·82	51·09	1	43·58	52·17	1	44·33	53·25
2	42·84	51·12	2	43·60	52·20	2	44·35	53·28
3	42·86	51·14	3	43·62	52·23	3	44·37	53·31
4	42·88	51·17	4	43·64	52·25	4	44·39	53·33
5	42·90	51·20	5	43·66	52·28	5	44·41	53·36
6	42·92	51·23	6	43·68	52·31	6	44·43	53·39
7	42·94	51·26	7	43·70	52·34	7	44·45	53·41
8	42·96	51·28	8	43·71	52·36	8	44·47	53·44
9	42·98	51·31	9	43·73	52·39	9	44·49	53·47
1·1950	**43·00**	**51·34**	**1.1990**	**43·75**	**52·42**	**1·2030**	**44·50**	**53·49**
1	43·01	51·36	1	43·77	52·44	1	44·52	53·52
2	43·03	51·39	2	43·79	52·47	2	44·54	53·55
3	43·05	51·41	3	43·81	52·50	3	44·56	53·58
4	43·07	51·44	4	43·83	52·52	4	44·58	53·60
5	43·09	51·47	5	43·85	52·55	5	44·60	53·63
6	43·11	51·50	6	43·86	52·58	6	44·62	53·66
7	43·13	51·53	7	43·88	52·60	7	44·64	53·68
8	43·15	51·55	8	43·90	52·63	8	44·65	53·71
9	43·17	51·58	9	43·92	52·65	9	44·67	53·74
1·1960	**43·19**	**51·61**	**1·2000**	**43·94**	**52·68**	**1·2040**	**44·69**	**53·76**

Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15°}{15°} C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15°}{15°} C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15°}{15°} C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·2040	**44·69**	**53·76**	**1·2080**	**45·44**	**54·85**	**1·2120**	**46·19**	**55·93**
1	44·71	53·79	1	45·46	54·87	1	46·21	55·96
2	44·73	53·82	2	45·48	54·90	2	46·22	55·98
3	44·75	53·85	3	45·50	54·93	3	46·24	56·01
4	44·77	53·87	4	45·52	54·96	4	46·26	56·04
5	44·79	53·90	5	45·53	54·98	5	46·28	56·07
6	44·80	53·93	6	45·55	55·01	6	46·30	56·10
7	44·82	53·95	7	45·57	55·03	7	46·32	56·12
8	44·84	53·98	8	45·59	55·06	8	46·34	56·15
9	44·86	54·01	9	45·61	55·09	9	46·35	56·17
1·2050	**44·88**	**54·03**	**1·2090**	**45·63**	**55·12**	**1·2130**	**46·37**	**56·20**
1	44·90	54·06	1	45·65	55·15	1	46·39	56·23
2	44·92	54·09	2	45·67	55·17	2	46·41	56·26
3	44·94	54·12	3	45·68	55·20	3	46·43	56·29
4	44·96	54·14	4	45·70	55·23	4	46·45	56·31
5	44·97	54·17	5	45·72	55·25	5	46·47	56·34
6	44·99	54·20	6	45·74	55·28	6	46·48	56·36
7	45·01	54·22	7	45·76	55·31	7	46·50	56·39
8	45·03	54·25	8	45·78	55·33	8	46·52	56·42
9	45·05	54·28	9	45·80	55·36	9	46·54	56·45
1·2060	**45·07**	**54·30**	**1·2100**	**45·81**	**55·39**	**1·2140**	**46·56**	**56·48**
1	45·09	54·33	1	45·83	55·41	1	46·58	56·50
2	45·10	54·36	2	45·85	55·44	2	46·60	56·53
3	45·12	54·39	3	45·87	55·47	3	46·61	56·56
4	45·14	54·41	4	45·89	55·50	4	46·63	56·58
5	45·16	54·44	5	45·91	55·52	5	46·65	56·61
6	45·18	54·47	6	45·93	55·55	6	46·67	56·64
7	45·20	54·50	7	45·94	55·58	7	46·69	56·67
8	45·22	54·52	8	45·96	55·60	8	46·71	56·69
9	45·24	54·55	9	45·98	55·63	9	46·72	56·72
1·2070	**45·25**	**54·58**	**1·2110**	**46·00**	**55·66**	**1·2150**	**46·74**	**56·75**
1	45·27	54·60	1	46·02	55·68	1	46·76	56·77
2	45·29	54·63	2	46·04	55·71	2	46·78	56·80
3	45·31	54·66	3	46·06	55·74	3	46·80	56·83
4	45·33	54·68	4	46·07	55·76	4	46·82	56·86
5	45·35	54·71	5	46·09	55·79	5	46·84	56·88
6	45·37	54·74	6	46·11	55·82	6	46·85	56·91
7	45·39	54·77	7	46·13	55·85	7	46·87	56·94
8	45·40	54·79	8	46·15	55·88	8	46·89	56·96
9	45·42	54·82	9	46·17	55·90	9	46·91	56·99
1·2080	**45·44**	**54·85**	**1·2120**	**46·19**	**55·93**	**1·2160**	**46·93**	**57·02**

Dichte bei 15° C $d\frac{15°}{15°}C$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\frac{15°}{15°}C$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\frac{15°}{15°}C$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·2160	**46·93**	**57·02**	**1·2200**	**47·66**	**58·10**	**1·2240**	**48·40**	**59·19**
1	46·95	57·04	1	47·68	58·13	1	48·42	59·22
2	46·97	57·07	2	47·70	58·15	2	48·44	59·25
3	46·98	57·09	3	47·72	58·18	3	48·45	59·27
4	47·00	57·12	4	47·74	58·21	4	48·47	59·30
5	47·02	57·15	5	47·76	58·24	5	48·49	59·33
6	47·04	57·18	6	47·77	58·26	6	48·51	59·36
7	47·06	57·20	7	47·79	58·29	7	48·53	59·38
8	47·07	57·23	8	47·81	58·32	8	48·55	59·41
9	47·09	57·26	9	47·83	58·35	9	48·56	59·43
1·2170	**47·11**	**57·28**	**1·2210**	**47·85**	**58·38**	**1·2250**	**48·58**	**59·46**
1	47·13	57·31	1	47·87	58·40	1	48·60	59·49
2	47·15	57·34	2	47·89	58·43	2	48·62	59·52
3	47·17	57·37	3	47·90	58·45	3	48·64	59·55
4	47·19	57·40	4	47·92	58·48	4	48·66	59·58
5	47·20	57·42	5	47·94	58·51	5	48·67	59·60
6	47·22	57·45	6	47·96	58·54	6	48·69	59·62
7	47·24	57·48	7	47·98	58·56	7	48·71	59·65
8	47·26	57·50	8	48·00	58·59	8	48·73	59·68
9	47·28	57·53	9	48·01	58·62	9	48·75	59·71
1·2180	**47·30**	**57·56**	**1·2220**	**48·03**	**58·65**	**1·2260**	**48·76**	**59·73**
1	47·31	57·58	1	48·05	58·67	1	48·78	59·76
2	47·33	57·61	2	48·07	58·70	2	48·80	59·79
3	47·35	57·64	3	48·09	58·73	3	48·82	59·82
4	47·37	57·67	4	48·11	58·76	4	48·84	59·84
5	47·39	57·70	5	48·12	58·78	5	48·86	59·87
6	47·41	57·72	6	48·14	58·81	6	48·87	59·90
7	47·43	57·75	7	48·16	58·84	7	48·89	59·92
8	47·44	57·77	8	48·18	58·87	8	48·91	59·95
9	47·46	57·80	9	48·20	58·89	9	48·93	59·98
1·2190	**47·48**	**57·83**	**1·2230**	**48·22**	**58·92**	**1·2270**	**48·95**	**60·01**
1	47·50	57·86	1	48·23	58·94	1	48·97	60·04
2	47·52	57·88	2	48·25	58·97	2	48·98	60·06
3	47·54	57·91	3	48·27	59·00	3	49·00	60·09
4	47·55	57·94	4	48·29	59·03	4	49·02	60·11
5	47·57	57·96	5	48·31	59·05	5	49·04	60·14
6	47·59	57·99	6	48·33	59·08	6	49·05	60·16
7	47·61	58·02	7	48·34	59·10	7	49·07	60·19
8	47·63	58·05	8	48·36	59·13	8	49·09	60·22
9	47·65	58·08	9	48·38	59·16	9	49·11	60·25
1·2200	**47·66**	**58·10**	**1·2240**	**48·40**	**59·19**	**1·2280**	**49·13**	**60·28**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·2280	**49·13**	**60·28**	**1·2320**	**49·85**	**61·37**	**1·2360**	**50·58**	**62·46**
1	49·15	60·31	1	49·87	61·40	1	50·60	62·49
2	49·16	60·33	2	49·89	61·43	2	50·61	62·51
3	49·18	60·36	3	49·91	61·45	3	50·63	62·54
4	49·20	60·39	4	49·93	61·48	4	50·65	62·57
5	49·22	60·41	5	49·94	61·51	5	50·67	62·60
6	49·24	60·44	6	49·96	61·53	6	50·69	62·63
7	49·25	60·47	7	49·98	61·56	7	50·70	62·65
8	49·27	60·49	8	50·00	61·59	8	50·72	62·68
9	49·29	60·52	9	50·02	61·62	9	50·74	62·70
1·2290	**49·31**	**60·55**	**1·2330**	**50·04**	**61·64**	**1·2370**	**50·76**	**62·73**
1	49·33	60·58	1	50·05	61·67	1	50·78	62·76
2	49·35	60·61	2	50·07	61·70	2	50·79	62·79
3	49·36	60·63	3	50·09	61·72	3	50·81	62·81
4	49·38	60·66	4	50·11	61·75	4	50·83	62·84
5	49·40	60·69	5	50·13	61·78	5	50·85	62·87
6	49·42	60·72	6	50·14	61·80	6	50·87	62·90
7	49·44	60·74	7	50·16	61·83	7	50·88	62·92
8	49·45	60·76	8	50·18	61·86	8	50·90	62·95
9	49·47	60·79	9	50·20	61·89	9	50·92	62·98
1·2300	**49·49**	**60·82**	**1·2340**	**50·22**	**61·92**	**1·2380**	**50·94**	**63·01**
1	49·51	60·85	1	50·23	61·94	1	50·96	63·04
2	49·53	60·88	2	50·25	61·97	2	50·97	63·06
3	49·55	60·91	3	50·27	62·00	3	50·99	63·09
4	49·56	60·93	4	50·29	62·02	4	51·01	63·12
5	49·58	60·96	5	50·31	62·05	5	51·03	63·14
6	49·60	60·99	6	50·32	62·08	6	51·05	63·17
7	49·62	61·02	7	50·34	62·10	7	51·06	63·20
8	49·64	61·04	8	50·36	62·13	8	51·08	63·22
9	49·65	61·07	9	50·38	62·16	9	51·10	63·25
1·2310	**49·67**	**61·10**	**1·2350**	**50·40**	**62·19**	**1·2390**	**51·12**	**63·28**
1	49·69	61·12	1	50·42	62·22	1	51·14	63·31
2	49·71	61·15	2	50·43	62·24	2	51·15	63·33
3	49·73	61·18	3	50·45	62·27	3	51·17	63·37
4	49·75	61·21	4	50·47	62·30	4	51·19	63·39
5	49·76	61·23	5	50·49	62·33	5	51·21	63·42
6	49·78	61·26	6	50·51	62·36	6	51·23	63·45
7	49·80	61·29	7	50·52	62·38	7	51·24	63·47
8	49·82	61·31	8	50·54	62·41	8	51·26	64·50
9	49·84	61·34	9	50·56	62·44	9	51·28	[illegible]
1·2320	**49·85**	**61·37**	**1·2360**	**50·58**	**62·46**	**1·2400**	**51·30**	**63·56**

Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15^0}{15^0}\right)$ C	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15^0}{15^0}\right)$ C	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15^0}{15^0}\right)$ C	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·2400	**51·30**	**63·56**	**1·2440**	**52·01**	**64·65**	**1·2480**	**52·73**	**65·75**
1	51·32	63·59	1	52·03	64·68	1	52·74	65·77
2	51·33	63·61	2	52·05	64·71	2	52·76	65·80
3	51·35	63·64	3	52·07	64·73	3	52·78	65·83
4	51·37	63·67	4	52·09	64·76	4	52·80	65·86
5	51·39	63·70	5	52·10	64·79	5	52·81	65·88
6	51·41	63·72	6	52·12	64·81	6	52·83	65·91
7	51·42	63·75	7	52·14	64·84	7	52·85	65·94
8	51·44	63·78	8	52·16	64·87	8	52·87	65·97
9	51·46	63·80	9	52·17	64·89	9	52·89	66·00
1·2410	**51·48**	**63·83**	**1·2450**	**52·19**	**64·92**	**1·2490**	**52·90**	**66·02**
1	51·49	63·86	1	52·21	64·95	1	52·92	66·05
2	51·51	63·88	2	52·23	64·98	2	52·94	66·08
3	51·53	63·91	3	52·25	65·01	3	52·96	66·10
4	51·55	63·94	4	52·26	65·03	4	52·97	66·13
5	51·57	63·97	5	52·28	65·06	5	52·99	66·16
6	51·58	63·99	6	52·30	65·09	6	53·01	66·18
7	51·60	64·02	7	52·32	65·12	7	53·03	66·21
8	51·62	64·05	8	52·33	65·14	8	53·04	66·24
9	51·64	64·08	9	52·35	65·17	9	53·06	66·26
1·2420	**51·66**	**64·11**	**1·2460**	**52·37**	**65·20**	**1·2500**	**53·08**	**66·29**
1	51·67	64·13	1	52·39	65·23	1	53·10	66·32
2	51·69	64·16	2	52·40	65·25	2	53·12	66·35
3	51·71	64·18	3	52·42	65·28	3	53·13	66·37
4	51·73	64·21	4	52·44	65·31	4	53·15	66·40
5	51·75	64·24	5	52·46	65·34	5	53·17	66·43
6	51·76	64·26	6	52·48	65·37	6	53·19	66·46
7	51·78	64·29	7	52·49	65·39	7	53·20	66·48
8	51·80	64·32	8	52·51	65·42	8	53·22	66·51
9	51·82	64·35	9	52·53	65·45	9	53·24	66·54
1·2430	**51·83**	**64·37**	**1·2470**	**52·55**	**65·47**	**1·2510**	**53·26**	**66·57**
1	51·85	64·40	1	52·56	65·50	1	53·27	66·59
2	51·87	64·43	2	52·58	65·52	2	53·29	66·62
3	51·89	64·46	3	52·60	65·55	3	53·31	66·65
4	51·91	64·49	4	52·62	65·58	4	53·33	66·68
5	51·92	64·51	5	52·64	65·61	5	53·35	66·71
6	51·94	64·54	6	52·65	65·63	6	53·36	66·73
7	51·96	64·57	7	52·67	65·66	7	53·38	66·76
8	51·98	64·60	8	52·69	65·69	8	53·40	66·79
9	52·00	64·63	9	52·71	65·72	9	53·42	66·82
1·2440	**52·01**	**64·65**	**1·2480**	**52·73**	**65·75**	**1·2520**	**53·43**	**66·84**

Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15^0}{15^0} C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15^0}{15^0} C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15^0}{15^0} C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·2520	**53·43**	**66·84**	**1·2560**	**54·14**	**67·94**	**1·2600**	**54·84**	**69·04**
1	53·45	66·87	1	54·16	67·97	1	54·86	69·07
2	53·47	66·90	2	54·17	67·99	2	54·88	69·10
3	53·49	66·93	3	54·19	68·02	3	54·89	69·12
4	53·50	66·95	4	54·21	68·05	4	54·91	69·15
5	53·52	66·98	5	54·23	68·08	5	54·93	69·18
6	53·54	67·01	6	54·25	68·11	6	54·95	69·21
7	53·56	67·04	7	54·26	68·13	7	54·96	69·23
8	53·58	67·07	8	54·28	68·16	8	54·98	69·26
9	53·59	67·09	9	54·30	68·19	9	55·00	69·29
1·2530	**53·61**	**67·12**	**1·2570**	**54·32**	**68·22**	**1·2610**	**55·02**	**69·32**
1	53·63	67·15	1	54·33	68·24	1	55·03	69·34
2	53·65	67·18	2	54·35	68·27	2	55·05	69·37
3	53·66	67·20	3	54·37	68·30	3	55·07	69·40
4	53·68	67·23	4	54·39	68·33	4	55·09	69·42
5	53·70	67·26	5	54·40	68·35	5	55·10	69·45
6	53·72	67·29	6	54·42	68·38	6	55·12	69·48
7	53·73	67·31	7	54·44	68·41	7	55·14	69·51
8	53·75	67·34	8	54·46	68·44	8	55·16	69·54
9	53·77	67·37	9	54·47	68·46	9	55·17	69·56
1·2540	**53·79**	**67·40**	**1·2580**	**54·49**	**68·49**	**1·2620**	**55·19**	**69·59**
1	53·81	67·42	1	54·51	68·52	1	55·21	69·62
2	53·82	67·45	2	54·53	68·55	2	55·23	69·65
3	53·84	67·48	3	54·54	68·57	3	55·24	69·67
4	53·86	67·51	4	54·56	68·60	4	55·26	69·70
5	53·88	67·53	5	54·58	68·63	5	55·28	69·73
6	53·89	67·56	6	54·60	68·66	6	55·30	69·76
7	53·91	67·59	7	54·61	68·68	7	55·31	69·78
8	53·93	67·61	8	54·63	68·71	8	55·33	69·81
9	53·95	67·64	9	54·65	68·74	9	55·35	69·84
1·2550	**53·96**	**67·67**	**1·2590**	**54·67**	**68·77**	**1·2630**	**55·37**	**69·87**
1	53·98	67·69	1	54·68	68·79	1	55·38	69·89
2	54·00	67·72	2	54·70	68·82	2	55·40	69·92
3	54·02	67·75	3	54·72	68·85	3	55·42	69·95
4	54·03	67·77	4	54·74	68·88	4	55·44	69·98
5	54·05	67·80	5	54·75	68·90	5	55·45	70·00
6	54·07	67·83	6	54·77	68·93	6	55·47	70·03
7	54·09	67·86	7	54·79	68·96	7	55·49	70·06
8	54·10	67·88	8	54·81	68·99	8	55·51	70·09
9	54·12	67·91	9	54·82	69·01	9	55·52	70·11
1·2560	**54·14**	**67·94**	**1·2600**	**54·84**	**69·04**	**1·2640**	**55·54**	**70·14**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^{0}}{15^{0}}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^{0}}{15^{0}}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^{0}}{15^{0}}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·2640	**55·54**	**70·14**	**1·2680**	**56·24**	**71·25**	**1·2720**	**56·93**	**72·35**
1	55·56	70·17	1	56·25	71·27	1	56·95	72·38
2	55·58	70·20	2	56·27	71·30	2	56·96	72·40
3	55·59	70·22	3	56·29	71·33	3	56·98	72·43
4	55·61	70·25	4	56·31	71·36	4	57·00	72·46
5	55·63	70·28	5	56·32	71·38	5	57·02	72·49
6	55·65	70·31	6	56·34	71·41	6	57·03	72·51
7	55·66	70·33	7	56·36	71·44	7	57·05	72·54
8	55·68	70·36	8	56·38	71·47	8	57·07	72·57
9	55·70	70·39	9	56·39	71·49	9	57·09	72·60
1·2650	**55·72**	**70·42**	**1·2690**	**56·41**	**71·52**	**1·2730**	**57·10**	**72·63**
1	55·73	70·44	1	56·43	71·55	1	57·12	72·66
2	55·75	70·47	2	56·45	71·58	2	57·14	72·69
3	55·77	70·50	3	56·46	71·60	3	57·15	72·71
4	55·79	70·53	4	56·48	71·63	4	57·17	72·74
5	55·80	70·55	5	56·50	71·66	5	57·19	72·77
6	55·82	70·58	6	56·51	71·68	6	57·21	72·80
7	55·84	70·61	7	56·53	71·71	7	57·22	72·82
8	55·85	70·64	8	56·55	71·74	8	57·24	72·85
9	55·87	70·67	9	56·57	71·77	9	57·26	72·88
1·2660	**55·89**	**70·69**	**1·2700**	**56·58**	**71·80**	**1·2740**	**57·27**	**72·90**
1	55·91	70·72	1	56·60	71·83	1	57·29	72·93
2	55·92	70·75	2	56·62	71·86	2	57·31	72·96
3	55·94	70·78	3	56·64	71·89	3	57·33	72·99
4	55·96	70·81	4	56·65	71·91	4	57·34	73·01
5	55·98	70·84	5	56·67	71·94	5	57·36	73·04
6	55·99	70·86	6	56·69	71·97	6	57·38	73·07
7	56·01	70·89	7	56·70	71·99	7	57·39	73·09
8	56·03	70·92	8	56·72	72·02	8	57·41	73·12
9	56·05	70·95	9	56·74	72·05	9	57·43	73·15
1·2670	**56·06**	**70·97**	**1·2710**	**56·76**	**72·08**	**1·2750**	**57·45**	**73·18**
1	56·08	71·00	1	56·77	72·10	1	57·46	73·21
2	56·10	71·03	2	56·79	72·13	2	57·48	73·24
3	56·12	71·06	3	56·81	72·16	3	57·50	73·27
4	56·13	71·08	4	56·83	72·19	4	57·52	73·30
5	56·15	71·11	5	56·84	72·21	5	57·53	73·32
6	56·17	71·14	6	56·86	72·24	6	57·55	73·35
7	56·18	71·16	7	56·88	72·27	7	57·57	73·38
8	56·20	71·19	8	56·89	72·29	8	57·58	73·40
9	56·22	71·22	9	56·91	72·32	9	57·60	73·43
1·2680	**56·24**	**71·25**	**1·2720**	**56·93**	**72·35**	**1·2760**	**57·62**	**73·46**

Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15°}{15°}\right)$ C	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15°}{15°}\right)$ C	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15°}{15°}\right)$ C	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·2760	**57·62**	**73·46**	**1·2800**	**58·31**	**74·57**	**1·2840**	**58·99**	**75·68**
1	57·64	73·49	1	58·32	74·59	1	59·01	75·71
2	57·65	73·51	2	58·34	74·62	2	59·02	75·73
3	57·67	73·54	3	58·36	74·65	3	59·04	75·76
4	57·69	73·57	4	58·37	74·67	4	59·06	75·79
5	57·70	73·59	5	58·39	74·70	5	59·07	75·81
6	57·72	73·62	6	58·41	74·73	6	59·09	75·84
7	57·74	73·65	7	58·42	74·76	7	59·11	75·87
8	57·76	73·68	8	58·44	74·79	8	59·12	75·89
9	57·77	73·70	9	58·46	74·82	9	59·14	75·92
1·2770	**57·79**	**73·73**	**1·2810**	**58·48**	**74·85**	**1·2850**	**59·16**	**75·95**
1	57·81	73·76	1	58·49	74·87	1	59·18	75·98
2	57·82	73·79	2	58·51	74·90	2	59·19	76·01
3	57·84	73·82	3	58·53	74·93	3	59·21	76·04
4	57·86	73·85	4	58·54	74·95	4	59·23	76·07
5	57·88	73·88	5	58·56	74·98	5	59·24	76·09
6	57·89	73·90	6	58·58	75·01	6	59·26	76·12
7	57·91	73·93	7	58·60	75·04	7	59·28	76·15
8	57·93	73·96	8	58·61	75·06	8	59·29	76·17
9	57·95	73·99	9	58·63	75·09	9	59·31	76·20
1·2780	**57·96**	**74·01**	**1·2820**	**58·65**	**75·12**	**1·2860**	**59·33**	**76·23**
1	57·98	74·04	1	58·66	75·15	1	59·35	76·26
2	58·00	74·07	2	58·68	75·18	2	59·36	76·28
3	58·01	74·09	3	58·70	75·21	3	59·38	76·31
4	58·03	74·12	4	58·72	75·24	4	59·40	76·34
5	58·05	74·15	5	58·73	75·26	5	59·41	76·37
6	58·07	74·18	6	58·75	75·29	6	59·43	76·40
7	58·08	74·20	7	58·77	75·32	7	59·45	76·43
8	58·10	74·23	8	58·78	75·34	8	59·46	76·45
9	58·12	74·26	9	58·80	75·37	9	59·48	76·48
1·2790	**58·13**	**74·29**	**1·2830**	**58·82**	**75·40**	**1·2870**	**59·50**	**76·51**
1	58·15	74·31	1	58·84	75·43	1	59·52	76·54
2	58·17	74·34	2	58·85	75·45	2	59·53	76·56
3	58·19	74·37	3	58·87	75·48	3	59·55	76·59
4	58·20	74·40	4	58·89	75·51	4	59·57	76·62
5	58·22	74·43	5	58·90	75·54	5	59·58	76·65
6	58·24	74·46	6	58·92	75·57	6	59·60	76·68
7	58·25	74·48	7	58·94	75·60	7	59·62	76·71
8	58·27	74·51	8	58·95	75·62	8	59·63	76·73
9	58·29	74·54	9	58·97	75·65	9	59·65	76·76
1·2800	**58·31**	**74·57**	**1·2840**	**58·99**	**75·68**	**1·2880**	**59·67**	**76·79**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·2880	**59·67**	**76·79**	**1·2920**	**60·35**	**77·90**	**1·2960**	**61·02**	**79·02**
1	59·69	76·82	1	60·36	77·93	1	61·04	79·05
2	59·70	76·84	2	60·38	77·96	2	61·06	79·08
3	59·72	76·87	3	60·40	77·99	3	61·07	79·10
4	59·74	76·90	4	60·41	78·01	4	61·09	79·13
5	59·75	76·92	5	60·43	78·04	5	61·11	79·16
6	59·77	76·95	6	60·45	78·07	6	61·12	79·18
7	59·79	76·98	7	60·47	78·10	7	61·14	79·21
8	59·80	77·01	8	60·48	78·13	8	61·16	79·24
9	59·82	77·04	9	60·50	78·16	9	61·17	79·27
1·2890	**59·84**	**77·07**	**1·2930**	**60·52**	**78·19**	**1·2970**	**61·19**	**79·30**
1	59·86	77·10	1	60·53	78·21	1	61·21	79·33
2	59·87	77·12	2	60·55	78·24	2	61·22	79·35
3	59·89	77·15	3	60·57	78·27	3	61·24	79·38
4	59·91	77·18	4	60·58	78·29	4	61·26	79·41
5	59·92	77·20	5	60·60	78·32	5	61·27	79·43
6	59·94	77·23	6	60·62	78·35	6	61·29	79·46
7	59·96	77·26	7	60·63	78·37	7	61·31	79·49
8	59·97	77·29	8	60·65	78·40	8	61·32	79·51
9	59·99	77·32	9	60·67	78·43	9	61·34	79·54
1·2900	**60·01**	**77·35**	**1·2940**	**60·69**	**78·46**	**1·2980**	**61·36**	**79·57**
1	60·03	77·38	1	60·70	78·49	1	61·37	79·60
2	60·04	77·40	2	60·72	78·52	2	61·39	79·63
3	60·06	77·43	3	60·74	78·55	3	61·41	79·66
4	60·08	77·46	4	60·75	78·57	4	61·42	79·68
5	60·09	77·48	5	60·77	78·60	5	61·44	79·71
6	60·11	77·51	6	60·79	78·63	6	61·46	79·74
7	60·13	77·54	7	60·80	78·65	7	61·48	79·77
8	60·14	77·57	8	60·82	78·68	8	61·49	79·80
9	60·16	77·60	9	60·84	78·71	9	61·51	79·83
1·2910	**60·18**	**77·63**	**1·2950**	**60·85**	**78·73**	**1·2990**	**61·53**	**79·86**
1	60·19	77·65	1	60·87	78·76	1	61·54	79·88
2	60·21	77·68	2	60·89	78·79	2	61·56	79·91
3	60·23	77·71	3	60·90	78·82	3	61·58	79·94
4	60·25	77·74	4	60·92	78·85	4	61·59	79·96
5	60·26	77·76	5	60·94	78·88	5	61·61	79·99
6	60·28	77·79	6	60·95	78·90	6	61·63	80·02
7	60·30	77·82	7	60·97	78·93	7	61·64	80·05
8	60·31	77·84	8	60·99	78·96	8	61·66	80·08
9	60·33	77·87	9	61·00	78·99	9	61·68	80·11
1·2920	**60·35**	**77·90**	**1·2960**	**61·02**	**79·02**	**1·3000**	**61·69**	**80·13**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·3000	**61·69**	**80·13**	**1·3040**	**62·36**	**81·25**	**1·3080**	**63·03**	**82·37**
1	61·71	80·16	1	62·38	81·28	1	63·04	82·40
2	61·73	80·19	2	62·40	81·31	2	63·06	82·43
3	61·74	80·21	3	62·41	81·33	3	63·08	82·46
4	61·76	80·24	4	62·43	81·36	4	63·09	82·48
5	61·78	80·27	5	62·45	81·39	5	63·11	82·51
6	61·79	80·30	6	62·46	81·42	6	63·13	82·54
7	61·81	80·33	7	62·48	81·45	7	63·14	82·56
8	61·83	80·36	8	62·50	81·48	8	63·16	82·59
9	61·84	80·38	9	62·51	81·50	9	63·18	82·62
1·3010	**61·86**	**80·41**	**1·3050**	**62·53**	**81·53**	**1·3090**	**63·19**	**82·65**
1	61·88	80·44	1	62·55	81·56	1	63·21	82·68
2	61·89	80·46	2	62·56	81·59	2	63·23	82·71
3	61·91	80·49	3	62·58	81·62	3	63·24	82·73
4	61·93	80·52	4	62·60	81·65	4	63·26	82·76
5	61·94	80·55	5	62·61	81·67	5	63·28	82·79
6	61·96	80·58	6	62·63	81·70	6	63·29	82·82
7	61·98	80·61	7	62·65	81·73	7	63·31	82·85
8	61·99	80·63	8	62·66	81·75	8	63·33	82·88
9	62·01	80·66	9	62·68	81·78	9	63·34	82·90
1·3020	**62·03**	**80·69**	**1·3060**	**62·70**	**81·81**	**1·3100**	**63·36**	**82·93**
1	62·04	80·72	1	62·71	81·84	1	63·38	82·96
2	62·06	80·75	2	62·73	81·87	2	63·39	82·99
3	62·08	80·78	3	62·75	81·90	3	63·41	83·02
4	62·09	80·80	4	62·76	81·92	4	63·43	83·05
5	62·11	80·83	5	62·78	81·95	5	63·44	83·07
6	62·13	80·86	6	62·80	81·98	6	63·46	83·10
7	62·14	80·88	7	62·81	82·01	7	63·48	83·13
8	62·16	80·91	8	62·83	82·04	8	63·49	83·15
9	62·18	80·94	9	62·84	82·06	9	63·51	83·18
1·3030	**62·20**	**80·97**	**1·3070**	**62·86**	**82·09**	**1·3110**	**63·52**	**83·21**
1	62·21	81·00	1	62·88	82·12	1	63·54	83·24
2	62·23	81·03	2	62·89	82·14	2	63·56	83·27
3	62·25	81·06	3	62·91	82·17	3	63·58	83·30
4	62·26	81·08	4	62·93	82·20	4	63·59	83·32
5	62·28	81·11	5	62·94	82·23	5	63·61	83·35
6	62·30	81·14	6	62·96	82·26	6	63·62	83·37
7	62·31	81·17	7	62·98	82·29	7	63·64	83·40
8	62·33	81·20	8	62·99	82·31	8	63·66	83·43
9	62·35	81·23	9	63·01	82·34	9	63·67	83·46
1·3040	**62·36**	**81·25**	**1·3080**	**63·03**	**82·37**	**1·3120**	**63·69**	**83·49**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15}{15^\circ}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15}{15^\circ}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15}{15^\circ}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·3120	**63·69**	**83·49**	**1·3160**	**64·35**	**84·61**	**1·3200**	**65·01**	**85·74**
1	63·71	83·52	1	64·37	84·64	1	65·02	85·76
2	63·72	83·54	2	64·38	84·67	2	65·04	85·79
3	63·74	83·57	3	64·40	84·70	3	65·06	85·82
4	63·76	83·60	4	64·42	84·73	4	65·07	85·85
5	63·77	83·63	5	64·43	84·75	5	65·09	85·88
6	63·79	83·66	6	64·45	84·78	6	65·11	85·91
7	63·81	83·69	7	64·47	84·81	7	65·12	85·93
8	63·82	83·71	8	64·48	84·84	8	65·14	85·96
9	63·84	83·74	9	64·50	84·87	9	65·16	85·99
1·3130	**63·86**	**83·77**	**1·3170**	**64·52**	**84·90**	**1·3210**	**65·17**	**86·02**
1	63·87	83·80	1	64·53	84·93	1	65·19	86·05
2	63·89	83·83	2	64·55	84·96	2	65·20	86·07
3	63·91	83·86	3	64·57	84·99	3	65·22	86·10
4	63·92	83·88	4	64·58	85·01	4	65·24	86·13
5	63·94	83·91	5	64·60	85·04	5	65·26	86·16
6	63·95	83·94	6	64·61	85·06	6	65·27	86·19
7	63·97	83·97	7	64·63	85·09	7	65·29	86·22
8	63·99	84·00	8	64·65	85·12	8	65·30	86·24
9	64·00	84·02	9	64·66	85·15	9	65·32	86·27
1·3140	**64·02**	**84·05**	**1·3180**	**64·68**	**85·18**	**1·3220**	**65·34**	**86·30**
1	64·04	84·08	1	64·70	85·21	1	65·35	86·33
2	64·05	84·11	2	64·71	85·23	2	65·37	86·36
3	64·07	84·14	3	64·73	85·26	3	65·39	86·39
4	64·09	84·17	4	64·75	85·29	4	65·40	86·41
5	64·10	84·19	5	64·76	85·32	5	65·42	86·44
6	64·12	84·22	6	64·78	85·35	6	65·43	86·47
7	64·14	84·25	7	64·80	85·38	7	65·45	86·50
8	64·15	84·28	8	64·81	85·40	8	65·47	86·53
9	64·17	84·31	9	64·83	85·43	9	65·48	86·55
1·3150	**64·19**	**84·34**	**1·3190**	**64·85**	**85·46**	**1·3230**	**65·50**	**86·58**
1	64·20	84·36	1	64·86	85·49	1	65·52	86·61
2	64·22	84·39	2	64·88	85·52	2	65·53	86·64
3	64·24	84·42	3	64·89	85·54	3	65·55	86·67
4	64·25	84·45	4	64·91	85·57	4	65·57	86·70
5	64·27	84·48	5	64·93	85·60	5	65·58	86·72
6	64·28	84·50	6	64·94	85·63	6	65·60	86·75
7	64·30	84·53	7	64·96	85·66	7	65·61	86·78
8	64·32	84·56	8	64·98	85·69	8	65·63	86·81
9	64·33	84·58	9	64·99	85·71	9	65·65	86·84
1·3160	**64·35**	**84·61**	**1·3200**	**65·01**	**85·74**	**1·3240**	**65·66**	**86·86**

Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15^0}{15^0} C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15^0}{15^0} C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C d $\left(\frac{15^0}{15^0} C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·3240	**65·66**	**86·86**	**1·3280**	**66·31**	**87·99**	**1·3320**	**66·96**	**89·12**
1	65·68	86·89	1	66·33	88·02	1	66·98	89·15
2	65·70	86·92	2	66·34	88·04	2	66·99	89·17
3	65·71	86·95	3	66·36	88·07	3	67·01	89·20
4	65·73	86·98	4	66·38	88·10	4	67·03	89·23
5	65·74	87·00	5	66·39	88·13	5	67·04	89·25
6	65·76	87·03	6	66·41	88·16	6	67·06	89·28
7	65·78	87·06	7	66·43	88·19	7	67·07	89·31
8	65·79	87·09	8	66·44	88·21	8	67·09	89·34
9	65·81	87·12	9	66·46	88·24	9	67·11	89·37
1·3250	**65·82**	**87·14**	**1·3290**	**66·48**	**88·27**	**1·3330**	**67·12**	**89·40**
1	65·84	87·17	1	66·49	88·30	1	67·14	89·43
2	65·86	87·20	2	66·51	88·33	2	67·16	89·46
3	65·87	87·23	3	66·52	88·35	3	67·17	89·48
4	65·89	87·26	4	66·54	88·38	4	67·19	89·51
5	65·90	87·28	5	66·56	88·41	5	67·20	89·54
6	65·92	87·31	6	66·57	88·44	6	67·22	89·57
7	65·94	87·34	7	66·59	88·47	7	67·24	89·60
8	65·95	87·37	8	66·60	88·49	8	67·25	89·63
9	65·97	87·40	9	66·62	88·52	9	67·27	89·66
1·3260	**65·99**	**87·43**	**1·3300**	**66·64**	**88·55**	**1·3340**	**67·29**	**89·69**
1	66·00	87·45	1	66·65	88·58	1	67·30	89·71
2	66·02	87·48	2	66·67	88·61	2	67·32	89·74
3	66·03	87·50	3	66·69	88·64	3	67·33	89·77
4	66·05	87·53	4	66·70	88·67	4	67·35	89·80
5	66·07	87·56	5	66·72	88·70	5	67·36	89·82
6	66·08	87·59	6	66·73	88·72	6	67·38	89·85
7	66·10	87·62	7	66·75	88·75	7	67·40	89·88
8	66·12	87·65	8	66·77	88·78	8	67·41	89·91
9	66·13	87·68	9	66·78	88·81	9	67·43	89·94
1·3270	**66·15**	**87·71**	**1·3310**	**66·80**	**88·84**	**1·3350**	**67·45**	**89·97**
1	66·17	87·74	1	66·82	88·87	1	67·46	89·99
2	66·18	87·76	2	66·83	88·89	2	67·48	90·02
3	66·20	87·79	3	66·85	88·92	3	67·49	90·05
4	66·21	87·82	4	66·86	88·95	4	67·51	90·08
5	66·23	87·85	5	66·88	88·98	5	67·53	90·11
6	66·25	87·88	6	66·90	89·01	6	67·54	90·13
7	66·26	87·91	7	66·91	89·03	7	67·56	90·16
8	66·28	87·94	8	66·93	89·06	8	67·57	90·19
9	66·30	87·97	9	66·94	89·09	9	67·59	90·22
1·3280	**66·31**	**87·99**	**1·3320**	**66·96**	**89·12**	**1·3360**	**67·61**	**90·25**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^{0}}{15^{0}} C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^{0}}{15^{0}} C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^{0}}{15^{0}} C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·3360	**67·61**	**90·25**	**1·3400**	**68·25**	**91·38**	**1·3440**	**68·89**	**92·51**
1	67·62	90·27	1	68·27	91·41	1	68·91	92·54
2	67·64	90·30	2	68·28	91·43	2	68·92	92·57
3	67·66	90·33	3	68·30	91·46	3	68·94	92·60
4	67·67	90·36	4	68·32	91·49	4	68·95	92·62
5	67·69	90·39	5	68·33	91·52	5	68·97	92·65
6	67·70	90·41	6	68·35	91·55	6	68·99	92·68
7	67·72	90·44	7	68·36	91·58	7	69·00	92·71
8	67·74	90·47	8	68·38	91·61	8	69·02	92·74
9	67·75	90·50	9	68·40	91·64	9	69·03	92·76
1·3370	**67·77**	**90·53**	**1·3410**	**68·41**	**91·66**	**1·3450**	**69·05**	**92·79**
1	67·78	90·56	1	68·43	91·69	1	69·07	92·82
2	67·80	90·59	2	68·44	91·72	2	69·08	92·85
3	67·82	90·62	3	68·46	91·75	3	69·10	92·88
4	67·83	90·64	4	68·48	91·78	4	69·11	92·91
5	67·85	90·67	5	68·49	91·80	5	69·13	92·94
6	67·86	90·70	6	68·51	91·83	6	69·15	92·97
7	67·88	90·73	7	68·52	91·86	7	69·16	92·99
8	67·90	90·76	8	68·54	91·89	8	69·18	93·02
9	67·91	90·78	9	68·56	91·92	9	69·19	93·05
1·3380	**67·93**	**90·81**	**1·3420**	**68·57**	**91·94**	**1·3460**	**69·21**	**93·08**
1	67·95	90·84	1	68·59	91·97	1	69·23	93·11
2	67·96	90·87	2	68·60	92·00	2	69·24	93·14
3	67·98	90·90	3	68·62	92·03	3	69·26	93·17
4	67·99	90·92	4	68·63	92·05	4	69·27	93·19
5	68·01	90·95	5	68·65	92·08	5	69·29	93·22
6	68·03	90·98	6	68·67	92·10	6	69·31	93·25
7	68·04	91·01	7	68·68	92·14	7	69·32	93·27
8	68·06	91·04	8	68·70	92·17	8	69·34	93·30
9	68·07	91·06	9	68·71	92·20	9	69·35	93·33
1·3390	**68·69**	**91·09**	**1·3430**	**68·73**	**92·23**	**1·3470**	**69·37**	**93·36**
1	68·11	91·12	1	68·75	92·26	1	69·39	93·39
2	68·12	91·15	2	68·76	92·28	2	69·40	93·42
3	68·14	91·18	3	68·78	92·31	3	69·42	93·45
4	68·15	91·20	4	68·79	92·34	4	69·43	93·47
5	68·17	91·23	5	68·81	92·37	5	69·45	93·50
6	68·19	91·26	6	68·83	92·40	6	69·47	93·53
7	68·20	91·29	7	68·84	92·42	7	69·48	93·56
8	68·22	91·32	8	68·86	92·45	8	69·50	93·59
9	68·24	91·35	9	68·87	92·48	9	69·51	93·62
1·3400	**68·25**	**91·38**	**1·3440**	**68·89**	**92·51**	**1·3480**	**69·53**	**93·65**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·3480	**69·53**	**93·65**	**1·3520**	**70·16**	**94·79**	**1·3560**	**70·80**	**95·93**
1	69·55	93·68	1	70·18	94·82	1	70·82	95·96
2	69·56	93·71	2	70·20	94·84	2	70·83	95·98
3	69·58	93·74	3	70·21	94·87	3	70·85	96·01
4	69·60	93·77	4	70·23	94·90	4	70·86	96·04
5	69·61	93·79	5	70·24	94·92	5	70·88	96·07
6	69·63	93·82	6	70·26	94·95	6	70·89	96·09
7	69·64	93·85	7	70·28	94·98	7	70·91	96·12
8	69·66	93·88	8	70·29	95·01	8	70·93	96·15
9	69·68	93·91	9	70·31	95·04	9	70·94	96·18
1·3490	**69·69**	**93·94**	**1·3530**	**70·32**	**95·07**	**1·3570**	**70·96**	**96·21**
1	69·71	93·97	1	70·34	95·10	1	70·97	96·23
2	69·72	93·99	2	70·36	95·13	2	70·99	96·26
3	69·74	94·02	3	70·37	95·15	3	71·01	96·29
4	69·75	94·04	4	70·39	95·18	4	71·02	96·32
5	69·77	94·07	5	70·40	95·21	5	71·04	96·35
6	69·78	94·10	6	70·42	95·24	6	71·05	96·38
7	69·80	94·13	7	70·43	95·27	7	71·07	96·41
8	69·81	94·15	8	70·45	95·30	8	71·08	96·43
9	69·83	94·18	9	70·47	95·33	9	71·10	96·46
1·3500	**69·85**	**94·21**	**1·3540**	**70·48**	**95·35**	**1·3580**	**71·12**	**96·49**
1	69·86	94·24	1	70·50	95·38	1	71·13	96·52
2	69·88	94·27	2	70·51	95·41	2	71·15	96·55
3	69·89	94·30	3	70·53	95·44	3	71·16	96·58
4	69·91	94·33	4	70·55	95·47	4	71·18	96·61
5	69·93	94·36	5	70·56	95·50	5	71·19	96·63
6	69·94	94·38	6	70·58	95·53	6	71·21	96·66
7	69·96	94·41	7	70·59	95·55	7	71·23	96·69
8	69·97	94·44	8	70·61	95·58	8	71·24	96·72
9	69·99	94·47	9	70·63	95·61	9	71·26	96·75
1·3510	**70·01**	**94·50**	**1·3550**	**70·64**	**95·64**	**1·3590**	**71·27**	**96·78**
1	70·02	94·53	1	70·66	95·67	1	71·29	96·81
2	70·04	94·56	2	70·67	95·70	2	71·31	96·84
3	70·05	94·58	3	70·69	95·73	3	71·32	96·87
4	70·07	94·61	4	70·71	95·76	4	71·34	96·90
5	70·09	94·64	5	70·72	95·78	5	71·35	96·92
6	70·10	94·67	6	70·74	95·81	6	71·37	96·95
7	70·12	94·70	7	70·75	95·84	7	71·38	96·98
8	70·13	94·73	8	70·77	95·87	8	71·40	97·01
9	70·15	94·76	9	70·78	95·90	9	71·42	97·04
1·3520	**70·16**	**94·79**	**1·3560**	**70·80**	**95·93**	**1·3600**	**71·43**	**97·07**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·3600	**71·43**	**97·07**	**1·3640**	**72·06**	**98·21**	**1·3680**	**72·69**	**99·35**
1	71·45	97·10	1	72·08	98·24	1	72·71	99·38
2	71·46	97·12	2	72·09	98·27	2	72·72	99·41
3	71·48	97·15	3	72·11	98·30	3	72·74	99·44
4	71·50	97·18	4	72·12	98·32	4	72·75	99·47
5	71·51	97·21	5	72·14	98·35	5	72·77	99·50
6	71·53	97·24	6	72·16	98·38	6	72·78	99·53
7	71·54	97·27	7	72·17	98·41	7	72·80	99·56
8	71·56	97·30	8	72·19	98·44	8	72·81	99·58
9	71·57	97·32	9	72·20	98·47	9	72·83	99·61
1·3610	**71·59**	**97·35**	**1·3650**	**72·22**	**98·50**	**1·3690**	**72·85**	**99·64**
1	71·61	97·38	1	72·23	98·52	1	72·86	99·67
2	71·62	97·41	2	72·25	98·55	2	72·88	99·70
3	71·64	97·44	3	72·27	98·58	3	72·89	99·72
4	71·65	97·47	4	72·28	98·61	4	72·91	99·75
5	71·67	97·50	5	72·30	98·64	5	72·92	99·78
6	71·68	97·52	6	72·31	98·67	6	72·94	99·81
7	71·70	97·55	7	72·33	98·70	7	72·95	99·84
8	71·72	97·58	8	72·34	98·72	8	72·97	99·87
9	71·73	97·61	9	72·36	98·75	9	72·98	99·89
1·3620	**71·75**	**97·64**	**1·3660**	**72·38**	**98·78**	**1·3700**	**73·00**	**99·92**
1	71·76	97·66	1	72·39	98·81	1	73·02	99·95
2	71·78	97·69	2	72·41	98·84	2	73·03	99·98
3	71·79	97·72	3	72·42	98·87	3	73·05	100·01
4	71·81	97·75	4	72·44	98·90	4	73·06	100·04
5	71·83	97·78	5	72·45	98·92	5	73·08	100·07
6	71·84	97·81	6	72·47	98·95	6	73·09	100·09
7	71·86	97·84	7	72·49	98·98	7	73·11	100·12
8	71·87	97·87	8	72·50	99·01	8	73·12	100·15
9	71·89	97·90	9	72·52	99·04	9	73·14	100·18
1·3630	**71·90**	**97·92**	**1·3670**	**72·53**	**99·07**	**1·3710**	**73·16**	**100·21**
1	71·92	97·95	1	72·55	99·10	1	73·17	100·24
2	71·94	97·98	2	72·56	99·13	2	73·19	100·27
3	71·96	98·01	3	72·58	99·16	3	73·20	100·30
4	71·87	98·04	4	72·60	99·19	4	73·22	100·33
5	71·98	98·07	5	72·61	99·21	5	73·23	100·36
6	72·00	98·10	6	72·63	99·24	6	73·25	100·39
7	72·01	98·12	7	72·64	99·27	7	73·26	100·41
8	72·03	98·15	8	72·66	99·30	8	73·28	100·44
9	72·05	98·18	9	72·67	99·32	9	73·30	100·47
1·3640	**72·06**	**98·21**	**1·3680**	**72·69**	**99·35**	**1·3720**	**73·31**	**100·50**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·3720	**73·31**	**100·50**	**1·3760**	**73·94**	**101·65**	**1·3800**	**74·56**	**102·81**
1	73·33	100·53	1	73·95	101·68	1	74·57	102·83
2	73·34	100·56	2	73·97	101·71	2	74·59	102·86
3	73·36	100·59	3	73·98	101·74	3	74·60	102·89
4	73·37	100·61	4	74·00	101·77	4	74·62	102·92
5	73·39	100·64	5	74·01	101·79	5	74·63	102·94
6	73·41	100·67	6	74·03	101·82	6	74·65	102·97
7	73·42	100·70	7	74·04	101·85	7	74·66	103·00
8	73·44	100·73	8	74·06	101·88	8	74·68	103·03
9	73·45	100·76	9	74·08	101·91	9	74·70	103·06
1·3730	**73·47**	**100·79**	**1·3770**	**74·09**	**101·93**	**1·3810**	**74·71**	**103·09**
1	73·48	100·81	1	74·11	101·96	1	74·73	103·12
2	73·50	100·84	2	74·12	101·99	2	74·74	103·15
3	73·51	100·87	3	74·14	102·02	3	74·76	103·18
4	73·53	100·90	4	74·15	102·05	4	74·77	103·20
5	73·55	100·93	5	74·17	102·08	5	74·79	103·23
6	73·56	100·96	6	74·18	102·11	6	74·80	103·26
7	73·58	100·99	7	74·20	102·14	7	74·82	103·29
8	73·59	101·01	8	74·22	102·17	8	74·84	103·32
9	73·61	101·04	9	74·23	102·20	9	74·85	103·35
1·3740	**73·62**	**101·07**	**1·3780**	**74·25**	**102·23**	**1·3820**	**74·87**	**103·38**
1	73·64	101·10	1	74·26	102·25	1	74·88	103·41
2	73·65	101·13	2	74·28	102·28	2	74·90	103·44
3	73·67	101·16	3	74·29	102·31	3	74·91	103·47
4	73·69	101·19	4	74·31	102·34	4	74·93	103·50
5	73·70	101·22	5	74·32	102·37	5	74·94	103·52
6	73·72	101·25	6	74·34	102·40	6	74·96	103·55
7	73·73	101·27	7	74·35	102·42	7	74·97	103·58
8	73·75	101·30	8	74·37	102·45	8	74·99	103·61
9	73·76	101·33	9	74·39	102·48	9	75·01	103·64
1·3750	**73·78**	**101·36**	**1·3790**	**74·40**	**102·51**	**1·3830**	**75·02**	**103·66**
1	73·80	101·39	1	74·42	102·54			
2	73·81	101·42	2	74·43	102·57			
3	73·83	101·45	3	74·45	102·60			
4	73·84	101·48	4	74·46	102·63			
5	73·86	101·51	5	74·48	102·66			
6	73·87	101·53	6	74·49	102·69			
7	73·89	101·56	7	74·51	102·72			
8	73·91	101·59	8	74·53	102·75			
9	73·92	101·62	9	74·54	102·78			
1·3760	**73·94**	**101·65**	**1·3800**	**74·56**	**102·81**			

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^\circ}{15^\circ}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^\circ}{15^\circ}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^\circ}{15^\circ}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·380	**74·56**	**102·81**	**1·420**	**80·64**	**114·41**	**1·460**	**86·52**	**126·22**
1	74·71	103·09	1	80·79	114·71	1	86·67	126·52
2	74·87	103·38	2	80·94	115·00	2	86·81	126·81
3	75·02	103·66	3	81·09	115·29	3	86·96	127·11
4	75·18	103·95	4	81·24	115·59	4	87·10	127·41
5	75·33	104·24	5	81·39	115·88	5	87·25	127·71
6	75·48	104·53	6	81·53	116·17	6	87·39	128·00
7	75·64	104·82	7	81·68	116·46	7	87·53	128·30
8	75·79	105·11	8	81·83	116·75	8	87·68	128·60
9	75·95	105·40	9	81·98	117·05	9	87·82	128·90
1·390	**76·10**	**105·69**	**1·430**	**82·13**	**117·35**	**1·470**	**87·97**	**129·20**
1	76·25	105·98	1	82·28	117·64	1	88·11	129·50
2	76·41	106·27	2	82·43	117·94	2	88·25	129·80
3	76·56	106·56	3	82·57	118·23	3	88·40	130·10
4	76·71	106·85	4	82·72	118·52	4	88·54	130·40
5	76·86	107·14	5	82·87	118·82	5	88·68	130·70
6	77·02	107·43	6	83·02	119·11	6	88·83	131·00
7	77·17	107·72	7	83·17	119·41	7	88·97	131·30
8	77·32	108·01	8	83·31	119·70	8	89·11	131·60
9	77·47	108·30	9	83·46	120·00	9	89·26	131·90
1·400	**77·63**	**108·59**	**1·440**	**83·61**	**120·29**	**1·480**	**89·40**	**132·20**
1	77·78	108·88	1	83·75	120·58	1	89·54	132·50
2	77·93	109·17	2	83·90	120·88	2	89·68	132·80
3	78·08	109·46	3	84·05	121·18	3	89·83	133·10
4	78·23	109·75	4	84·19	121·47	4	89·97	133·40
5	78·38	110·04	5	84·34	121·77	5	90·11	133·70
6	78·54	110·33	6	84·49	122·07	6	90·25	134·00
7	78·69	110·62	7	84·63	122·36	7	90·39	134·30
8	78·84	110·91	8	84·78	122·66	8	90·54	134·61
9	78·99	111·20	9	84·93	122·96	9	90·68	134·91
1·410	**79·14**	**111·49**	**1·450**	**85·07**	**123·25**	**1·490**	**90·82**	**135·21**
1	79·29	111·78	1	85·22	123·55	1	90·96	135·51
2	79·44	112·07	2	85·36	123·84	2	91·10	135·81
3	79·59	112·36	3	85·51	124·14	3	91·24	136·11
4	79·74	112·66	4	85·65	124·43	4	91·39	136·42
5	79·89	112·95	5	85·80	124·73	5	91·53	136·72
6	80·04	113·24	6	85·94	125·02	6	91·67	137·02
7	80·19	113·53	7	86·09	125·32	7	91·81	137·32
8	80·34	113·83	8	86·23	125·62	8	91·95	137·62
9	80·49	114·12	9	87·38	125·92	9	92·09	137·93
1·420	**80·64**	**114·41**	**1·460**	**86·52**	**126·22**	**1·500**	**92·23**	**138·23**

Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Gewichtsprozent Zucker	Gramm Zucker in 100 cm^3
1·500	**92·23**	**138·23**	**1·520**	**95·03**	**144·32**	**1·540**	**97·78**	**150·46**
1	92·37	138·53	1	95·16	144·62	1	97·92	150·77
2	92·51	138·83	2	95·30	144·92	2	98·06	151·08
3	92·65	139·14	3	95·44	145·23	3	98·19	151·38
4	92·79	139·44	4	95·58	145·54	4	98·33	151·69
5	92·93	139·74	5	95·72	145·85	5	98·47	152·00
6	93·07	140·04	6	95·86	146·16	6	98·60	152·31
7	93·21	140·35	7	95·99	146·46	7	98·74	152·62
8	93·35	140·65	8	96·13	146·76	8	98·88	152·93
9	93·49	140·96	9	96·27	147·07	9	99·01	153·24
1·510	**93·63**	**141·26**	**1·530**	**96·41**	**147·38**	**1·550**	**99·15**	**153·55**
1	93·77	141·56	1	96·55	147·69	1	99·29	153·86
2	93·91	141·87	2	96·68	147·99	2	99·42	154·17
3	94·05	142·18	3	96·82	148·30	3	99·56	154·48
4	94·19	142·48	4	96·96	148·61	4	99·70	154·79
5	94·33	142·79	5	97·10	148·92	5	99·83	155·10
6	94·47	143·09	6	97·23	149·22	6	99·97	155·41
7	94·61	143·40	7	97·37	149·53	**1·55626**	**100·00**	**155·49**
8	94·75	143·71	8	97·51	149·84			
9	94·89	144·02	9	97·65	150·15			
1·520	**95·03**	**144·32**	**1·540**	**97·78**	**150·46**			

2. Tafel.

Zur Ermittelung der Dichte wässeriger Zuckerlösungen aus der Saccharometeranzeige bei 15° C.

Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15°C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$
0·0	**1·00000**	**1·0**	**1·00389**	**2·0**	**1·00781**	**3·0**	**1·01176**
0·1	1·00039	1·1	1·00428	2·1	1·00820	3·1	1·01215
0·2	1·00078	1·2	1·00467	2·2	1·00860	3·2	1·01255
0·3	1·00117	1·3	1·00506	2·3	1·00899	3·3	1·01294
0·4	1·00155	1·4	1·00546	2·4	1·00938	3·4	1·01334
0·5	1·00194	1·5	1·00585	2·5	1·00978	3·5	1·01374
0·6	1·00233	1·6	1·00624	2·6	1·01017	3·6	1·01414
0·7	1·00272	1·7	1·00663	2·7	1·01057	3·7	1·01453
0·8	1·00311	1·8	1·00702	2·8	1·01096	3·8	1·01493
0·9	1·00350	1·9	1·00742	2·9	1·01136	3·9	1·01533
1·0	**1·00389**	**2·0**	**1·00781**	**3·0**	**1·01176**	**4·0**	**1·01573**

Saccharo-meter-anzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharo-meter-anzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharo-meter-anzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharo-meter-anzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$
4·0	**1·01573**	**8·0**	**1·03190**	**12·0**	**1·04854**	**16·0**	**1·06566**
4·1	1·01613	8·1	1·03231	12·1	10·4897	16·1	1·06610
4·2	1·01653	8·2	1·03272	12·2	1·04939	16·2	1·06653
4·3	1·01693	8·3	1·03314	12·3	1·04981	16·3	1·06697
4·4	1·01733	8·4	1·03355	12·4	1·05023	16·4	1·06740
4·5	1·01773	8·5	1·03396	12·5	1·05066	16·5	1·06784
4·6	1·01813	8·6	1·03437	12·6	1·05108	16·6	1·06828
4·7	1·01853	8·7	1·03478	12·7	1·05150	16·7	1·06871
4·8	1·01893	8·8	1·03519	12·8	1·05193	16·8	1·06915
4·9	1·01933	8·9	1·03561	12·9	1·05235	16·9	1·06959
5·0	**1·01773**	**9·0**	**1·03602**	**13·0**	**1·05278**	**17·0**	**1·07002**
5·1	1·02013	9·1	1·03643	13·1	1·05320	17·1	1·07046
5·2	1·02053	9·2	1·03685	13·2	1·05363	17·2	1·07090
5·3	1·02094	9·3	1·03726	13·3	1·05405	17·3	1·07134
5·4	1·02134	9·4	1·03767	13·4	1·05448	17·4	1·07178
5·5	1·02174	9·5	1·03809	13·5	1·05491	17·5	1·07221
5·6	1·02214	9·6	1·03850	13·6	1·05533	17·6	1·07265
5·7	1·02255	9·7	1·03892	13·7	1·05576	17·7	1·07309
5·8	1·02295	9·8	1·03933	13·8	1·05619	17·8	1·07353
5·9	1·02335	9·9	1·03975	13·9	1·05662	17·9	1·07397
6·0	**1·02376**	**10·0**	**1·04016**	**14·0**	**1·05704**	**18·0**	**1·07441**
6·1	1·02416	10·1	1·04058	14·1	1·05747	18·1	1·07485
6·2	1·02457	10·2	1·04100	14·2	1·05790	18·2	1·07529
6·3	1·02497	10·3	1·04141	14·3	1·05833	18·3	1·07574
6·4	1·02538	10·4	1·04183	14·4	1·05876	18·4	1·07618
6·5	1·02578	10·5	1·04225	14·5	1·05919	18·5	1·07662
6·6	1·02619	10·6	1·04266	14·6	1·05962	18·6	1·07706
6·7	1·02660	10·7	1·04308	14·7	1·06005	18·7	1·07750
6·8	1·02700	10·8	1·04350	14·8	1·06048	18·8	1·07795
6·9	1·02741	10·9	1·04392	14·9	1·06091	18·9	1·07839
7·0	**1·02782**	**11·0**	**1·04434**	**15·0**	**1·06134**	**19·0**	**1·07883**
7·1	1·02822	11·1	1·04476	15·1	1·06177	19·1	1·07928
7·2	1·02863	11·2	1·04518	15·2	1·06220	19·2	1·07972
7·3	1·02904	11·3	1·04560	15·3	1·06263	19·3	1·08017
7·4	1·02945	11·4	1·04602	15·4	1·06307	19·4	1·08061
7·5	1·02986	11·5	1·04644	15·5	1·06350	19·5	1·08106
7·6	1·03027	11·6	1·04686	15·6	1·06393	19·6	1·08150
7·7	1·03067	11·7	1·04728	15·7	1·06436	19·7	1·08195
7·8	1·03108	11·8	1·04770	15·8	1·06480	19·8	1·08239
7·9	1·03149	11·9	1·04812	15·9	1·06523	19·9	1·08284
8·0	**1·03190**	**12·0**	**1·04854**	**16·0**	**1·06566**	**20·0**	**1·08329**

Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15°}{15°}C\right)$
20·0	**1·08329**	**24·0**	**1·10142**	**28·0**	**1·12009**	**32·0**	**1·13930**
20·1	1·08373	24·1	1·10188	28·1	1·12056	32·1	1·13979
20·2	1·08418	24·2	1·10234	28·2	1·12104	32·2	1·14028
20·3	1·08463	24·3	1·10280	28·3	1·12151	32·3	1·14076
20·4	1·08508	24·4	1·10327	28·4	1·12199	32·4	1·14125
20·5	1·08552	24·5	1·10373	28·5	1·12246	32·5	1·14174
20·6	1·08597	24·6	1·10419	28·6	1·12294	32·6	1·14223
20·7	1·08642	24·7	1·10465	28·7	1·12341	32·7	1·14272
20·8	1·08687	24·8	1·10511	28·8	1·12389	32·8	1·14321
20·9	1·08732	24·9	1·10558	28·9	1·12436	32·9	1·14370
21·0	**1·08777**	**25·0**	**1·10604**	**29·0**	**1·12484**	**33·0**	**1·14419**
21·1	1·08822	25·1	1·10650	29·1	1·12532	33·1	1·14468
21·2	1·08867	25·2	1·10697	29·2	1·12579	33·2	1·14517
21·3	1·08912	25·3	1·10743	29·3	1·12627	33·3	1·14566
21·4	1·08957	25·4	1·10790	29·4	1·12675	33·4	1·14615
21·5	1·09003	25·5	1·10836	29·5	1·12723	33·5	1·14665
21·6	1·09048	25·6	1·10883	29·6	1·12771	33·6	1·14714
21·7	1·09093	25·7	1·10929	29·7	1·12819	33·7	1·14763
21·8	1·09138	25·8	1·10976	29·8	1·12867	33·8	1·14813
21·9	1·09184	25·9	1·11022	29·9	1·12915	33·9	1·14862
22·0	**1·09229**	**26·0**	**1·11069**	**30·0**	**1·12963**	**34·0**	**1·14911**
22·1	1·09274	26·2	1·11116	30·1	1·13011	34·1	1·14961
22·2	1·09320	26·2	1·11162	30·2	1·13059	34·2	1·15010
22·3	1·09365	26·3	1·11209	30·3	1·13107	34·3	1·15060
22·4	1·09410	26·4	1·11256	30·4	1·13155	34·4	1·15109
22·5	1·09456	26·5	1·11303	30·5	1·13203	34·5	1·15159
22·6	1·09501	26·6	1·11350	30·6	1·13251	34·6	1·15209
22·7	1·09547	26·7	1·11397	30·7	1·13300	34·7	1·15258
22·8	1·09593	26·8	1·11443	30·8	1·13348	34·8	1·15308
22·9	1·09638	26·9	1·11490	30·9	1·13396	34·9	1·15358
23·0	**1·09684**	**27·0**	**1·11537**	**31·0**	**1·13445**	**35·0**	**1·15407**
23·1	1·09730	27·1	1·11584	31·1	1·13493	35·1	1·15457
23·2	1·09775	27·2	1·11631	31·2	1·13541	35·2	1·15507
23·3	1·09821	27·3	1·11678	31·3	1·13590	35·3	1·15557
23·4	1·09867	27·4	1·11726	31·4	1·13638	35·4	1·15607
23·5	1·09913	27·5	1·11773	31·5	1·13687	35·5	1·15657
23·6	1·09959	27·6	1·11820	31·6	1·13735	35·6	1·15707
23·7	1·10004	27·7	1·11867	31·7	1·13784	35·7	1·15757
23·8	1·10050	27·8	1·11914	31·8	1·13833	35·8	1·15807
23·9	1·10096	27·9	1·11962	31·9	1·13881	35·9	1·15857
24·0	**1·10142**	**28·0**	**1·12009**	**32·0**	**1·13930**	**36·0**	**1·15907**

Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$
36·0	**1·15907**	**40·0**	**1·17941**	**44·0**	**1·20032**	**48·0**	**1·22183**
36·1	1·15957	40·1	1·17992	44·1	1·20086	48·1	1·22238
36·2	1·16007	40·2	1·18044	44·2	1·20139	48·2	1·22292
36·3	1·16057	40·3	1·18095	44·3	1·20192	48·3	1·22347
36·4	1·16108	40·4	1·18147	44·4	1·20245	48·4	1·22402
36·5	1·16158	40·5	1·18199	44·5	1·20298	48·5	1·22456
36·6	1·16208	40·6	1·18251	44·6	1·20351	48·6	1·22511
36·7	1·16259	40·7	1·18302	44·7	1·20405	48·7	1·22566
36·8	1·16309	40·8	1·18354	44·8	1·20458	48·8	1·22621
36·9	1·16359	40·9	1·18406	44·9	1·20511	48·9	1·22675
37·0	**1·16410**	**41·0**	**1·18458**	**45·0**	**1·20565**	**49·0**	**1·22730**
37·1	1·16460	41·1	1·18510	45·1	1·20618	49·1	1·22785
37·2	1·16511	41·2	1·18562	45·2	1·20672	49·2	1·22840
37·3	1·16562	41·3	1·18614	45·3	1·20725	49·3	1·22895
37·4	1·16612	41·4	1·18666	45·4	1·20779	49·4	1·22950
37·5	1·16663	41·5	1·18718	45·5	1·20832	49·5	1·23005
37·6	1·16713	41·6	1·18770	45·6	1·20886	49·6	1·23060
37·7	1·16764	41·7	1·18823	45·7	1·20939	49·7	1·23115
37·8	1·16815	41·8	1·18875	45·8	1·20993	49·8	1·23171
37·9	1·16866	41·9	1·18927	45·9	1·21047	49·9	1·23226
38·0	**1·16916**	**42·0**	**1·18979**	**46·0**	**1·21100**	**50·0**	**1·23281**
38·1	1·16967	42·1	1·19032	46·1	1·21154	50·1	1·23336
38·2	1·17018	42·2	1·19084	46·2	1·21208	50·2	1·23392
38·3	1·17069	42·3	1·19136	46·3	1·21262	50·3	1·23447
38·4	1·17120	42·4	1·19189	46·4	1·21316	50·4	1·23502
38·5	1·17171	42·5	1·19241	46·5	1·21370	50·5	1·23558
38·6	1·17222	42·6	1·19294	46·6	1·21424	50·6	1·23613
38·7	1·17273	42·7	1·19346	46·7	1·21478	50·7	1·23669
38·8	1·17324	42·8	1·19399	46·8	1·21552	50·8	1·23724
38·9	1·17376	42·9	1·19451	46·9	1·21586	50·9	1·23780
39·0	**1·17427**	**43·0**	**1·19504**	**47·0**	**1·21640**	**51·0**	**1·23836**
39·1	1·17478	43·1	1·19557	47·1	1·21694	51·1	1·23891
39·2	1·17529	43·2	1·19610	47·2	1·21748	51·2	1·23947
39·3	1·17581	43·3	1·19662	47·3	1·21803	51·3	1·24003
39·4	1·17632	43·4	1·19715	47·4	1·21857	51·4	1·24058
39·5	1·17683	43·5	1·19768	47·5	1·21911	51·5	1·24114
39·6	1·17735	43·6	1·19821	47·6	1·21965	51·6	1·24170
39·7	1·17786	43·7	1·19874	47·7	1·22020	51·7	1·24226
39·8	1·17838	43·8	1·19926	47·8	1·22074	51·8	1·24282
39·9	1·17889	43·9	1·19979	47·9	1·23129	51·9	1·24338
40·0	**1·17941**	**44·0**	**1·20032**	**48·0**	**1·22183**	**52·0**	**1·24394**

Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$
52·0	**1·24394**	**56·0**	**1·26655**	**60·0**	**1·28997**	**64·0**	**1·31390**
52·1	1·24450	56·1	1·26722	60·1	1·29056	64·1	1·31450
52·2	1·24506	56·2	1·26780	60·2	1·29115	64·2	1·31511
52·3	1·24562	56·3	1·26838	60·3	1·29174	64·3	1·31572
52·4	1·24628	56·4	1·26895	60·4	1·29233	64·4	1·31632
52·5	1·24674	56·5	1·26953	60·5	1·29292	64·5	1·31693
52·6	1·24731	56·6	1·27011	60·6	1·29352	64·6	1·31754
52·7	1·24787	56·7	1·27068	60·7	1·29411	64·7	1·31815
52·8	1·24843	56·8	1·27126	60·8	1·29470	64·8	1·31876
52·9	1·24899	56·9	1·27184	60·9	1·29530	64·9	1·31937
53·0	**1·24956**	**57·0**	**1·27242**	**61·0**	**1·29589**	**65·0**	**1·31997**
53·1	1·25012	57·1	1·27300	61·1	1·29649	65·1	1·32058
53·2	1·25069	57·2	1·27358	61·2	1·29708	65·2	1·32119
53·3	1·25125	57·3	1·27416	61·3	1·29768	65·3	1·32181
53·4	1·25182	57·4	1·27474	61·4	1·29827	65·4	1·32242
53·5	1·25238	57·5	1·27532	61·5	1·29887	65·5	1·32303
53·6	1·25295	57·6	1·27590	61·6	1·29946	65·6	1·32346
53·7	1·25352	57·7	1·27648	61·7	1·30006	65·7	1·32425
53·8	1·25408	57·8	1·27707	61·8	1·30066	65·8	1·32486
53·9	1·25465	57·9	1·27765	61·9	1·30126	65·9	1·32548
54·0	**1·25522**	**58·0**	**1·27823**	**62·0**	**1·30185**	**66·0**	**1·32609**
54·1	1·25579	58·1	1·27881	62·1	1·30245	66·1	1·32671
54·2	1·25635	58·2	1·27940	62·2	1·30305	66·2	1·32732
54·3	1·25692	58·3	1·27998	62·3	1·30365	66·3	1·32793
54·4	1·25750	58·4	1·28057	62·4	1·30425	66·4	1·32855
54·5	1·25806	58·5	1·28115	62·5	1·30485	66·5	1·32916
54·6	1·25863	58·6	1·28174	62·6	1·30545	66·6	1·32978
54·7	1·25920	58·7	1·28232	62·7	1·30605	66·7	1·33040
54·8	1·25977	58·8	1·28291	62·8	1·30665	66·8	1·33101
54·9	1·26034	58·9	1·28349	62·9	1·30725	66·9	1·33163
55·0	**1·26091**	**59·0**	**1·28408**	**63·0**	**1·30786**	**67·0**	**1·33225**
55·1	1·26149	59·1	1·28467	63·1	1·30846	67·1	1·33286
55·2	1·26206	59·2	1·28525	63·2	1·30906	67·2	1·33348
55·3	1·26263	59·3	1·28584	63·3	1·30966	67·3	1·33410
55·4	1·26320	59·4	1·28643	63·4	1·31027	67·4	1·33472
55·5	1·26378	59·5	1·28702	63·5	1·31087	67·5	1·33534
55·6	1·26435	59·6	1·28761	63·6	1·31148	67·6	1·33596
55·7	1·26492	59·7	1·28820	63·7	1·31208	67·7	1·33658
55·8	1·26550	59·8	1·28879	63·8	1·31269	67·8	1·33720
55·9	1·26607	59·9	1·28938	63·9	1·31329	67·9	1·33782
56·0	**1·26665**	**60·0**	**1·28997**	**64·0**	**1·31390**	**68·0**	**1·33844**

Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$
68·0	**1·33844**	**72·0**	**1·36359**	**76·0**	**1·38936**	**80·0**	**1·41572**
68·1	1·33906	72·1	1·36423	76·1	1·39001	80·1	1·41639
68·2	1·33968	72·2	1·36487	76·2	1·39064	80·2	1·41706
68·3	1·34031	72·3	1·36550	76·3	1·39131	80·3	1·41773
68·4	1·34093	72·4	1·36614	76·4	1·39197	80·4	1·41839
68·5	1·34155	72·5	1·36678	76·5	1·39262	80·5	1·41906
68·6	1·34217	72·6	1·36742	76·6	1·39327	80·6	1·41973
68·7	1·34280	72·7	1·36806	76·7	1·39393	80·7	1·42040
68·8	1·34342	72·8	1·36870	76·8	1·39458	80·8	1·42107
68·9	1·34405	72·9	1·36934	76·9	1·39524	80·9	1·42174
69·0	**1·34467**	**73·0**	**1·36998**	**77·0**	**1·39589**	**81·0**	**1·42241**
69·1	1·34530	73·1	1·37062	77·1	1·39655	81·1	1·42308
69·2	1·34592	73·2	1·37126	77·2	1·39721	81·2	1·42375
69·3	1·34655	73·3	1·37190	77·3	1·39786	81·3	1·42442
69·4	1·34717	73·4	1·37254	77·4	1·39852	81·4	1·42509
69·5	1·34780	73·5	1·37318	77·5	1·39918	81·5	1·42577
69·6	1·34843	73·6	1·37383	77·6	1·39983	81·6	1·42644
69·7	1·34906	73·7	1·37447	77·7	1·40049	81·7	1·42711
69·8	1·34968	73·8	1·37511	77·8	1·40115	81·8	1·42778
69·9	1·35031	73·9	1·37576	77·9	1·40181	81·9	1·42846
70·0	**1·35094**	**74·0**	**1·37640**	**78·0**	**1·40247**	**82·0**	**1·42913**
70·1	1·35157	74·1	1·37704	78·1	1·40313	82·1	1·42981
70·2	1·35220	74·2	1·37769	78·2	1·40379	82·2	1·43048
70·3	1·35283	74·3	1·37833	78·3	1·40445	82·3	1·43115
70·4	1·35346	74·4	1·37898	78·4	1·40511	82·4	1·43183
70·5	1·35409	74·5	1·37962	78·5	1·40577	82·5	1·43251
70·6	1·35472	74·6	1·38027	78·6	1·40643	82·6	1·43318
70·7	1·35535	74·7	1·38092	78·7	1·40709	82·7	1·43386
70·8	1·35598	74·8	1·38156	78·8	1·40775	82·8	1·43453
70·9	1·35662	74·9	1·38221	78·9	1·40841	82·9	1·43521
71·0	**1·35725**	**75·0**	**1·38286**	**79·0**	**1·40908**	**83·0**	**1·43589**
71·1	1·35788	75·1	1·38351	79·1	1·40974	83·1	1·43657
71·2	1·35851	75·2	1·38416	79·2	1·41040	83·2	1·43725
71·3	1·35915	75·3	1·38480	79·3	1·41107	83·3	1·43722
71·4	1·35978	75·4	1·38545	79·4	1·41173	83·4	1·43860
71·5	1·36042	75·5	1·38610	79·5	1·41240	83·5	1·43928
71·6	1·36105	75·6	1·38675	79·6	1·41306	83·6	1·43996
71·7	1·36169	75·7	1·38740	79·7	1·41373	83·7	1·44064
71·8	1·36232	75·8	1·38806	79·8	1·41439	83·8	1·44132
71·9	1·36296	75·9	1·38871	79·9	1·41506	83·9	1·44200
72·0	**1·36359**	**76·0**	**1·38936**	**80·0**	**1·41572**	**84·0**	**1·44269**

Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 10° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$	Saccharometeranzeige bei 15° C	Dichte bei 15° C $d\left(\frac{15^0}{15^0}C\right)$
84·0	**1·44269**	**88·0**	**1·47024**	**92·0**	**1·49836**	**96·0**	**1·52704**
84·1	1·44337	88·1	1·47093	92·1	1·49907	96·1	1·52776
84·2	1·44405	88·2	1·47163	92·2	1·49978	96·2	1·52849
84·3	1·44473	88·3	1·47232	92·3	1·50049	96·3	1·52921
84·4	1·44542	88·4	1·47302	92·4	1·50120	96·4	1·52994
84·5	1·44610	88·5	1·47372	92·5	1·50191	96·5	1·53066
84·6	1·44678	88·6	1·47442	92·6	1·50262	96·6	1·53139
84·7	1·44747	88·7	1·47511	92·7	1·50334	96·7	1·53211
84·8	1·44815	88·8	1·47581	92·8	1·50405	96·8	1·53284
84·9	1·44883	88·9	1·47651	92·9	1·50476	96·9	1·53357
85·0	**1·44952**	**89·0**	**1·47721**	**93·0**	**1·50547**	**97·0**	**1·53429**
85·1	1·45020	89·1	1·47791	93·1	1·50619	97·1	1·53502
85·2	1·45089	89·2	1·47861	93·2	1·50690	97·2	1·53575
85·3	1·45158	89·3	1·47931	93·3	1·50762	97·3	1·53648
85·4	1·45226	89·4	1·48001	93·4	1·50833	97·4	1·53720
85·5	1·45295	89·5	1·48071	93·5	1·50905	97·5	1·53793
85·6	1·45364	89·6	1·48141	93·6	1·50976	97·6	1·53866
85·7	1·45432	89·7	1·48212	93·7	1·51048	97·7	1·53939
85·8	1·45501	89·8	1·48282	93·8	1·51119	97·8	1·54012
85·9	1·45570	89·9	1·48352	93·9	1·51191	97·9	1·54085
86·0	**1·45639**	**90·0**	**1·48422**	**94·0**	**1·51263**	**98·0**	**1·54158**
86·1	1·45708	90·1	1·48493	94·1	1·51334	98·1	1·54231
86·2	1·45776	90·2	1·48563	94·2	1·51406	98·2	1·54304
86·3	1·45845	90·3	1·48634	94·3	1·51478	98·3	1·54378
86·4	1·45914	90·4	1·48704	94·4	1·51550	98·4	1·54451
86·5	1·45983	90·5	1·48774	94·5	1·51622	98·5	1·54524
86·6	1·46053	90·6	1·48845	94·6	1·51694	98·6	1·54597
86·7	1·46122	90·7	1·48915	94·7	1·51766	98·7	1·54670
86·8	1·46191	90·8	1·48986	94·8	1·51838	98·8	1·54744
86·9	1·46260	90·9	1·49057	94·9	1·51910	98·9	1·54817
87·0	**1·46329**	**91·0**	**1·49127**	**95·0**	**1·51982**	**99·0**	**1·54890**
87·1	1·46399	91·1	1·49198	95·1	1·52054	99·1	1·54964
87·2	1·46468	91·2	1·49269	95·2	1·52126	99·2	1·55037
87·3	1·46537	91·3	1·49339	95·3	1·52198	99·3	1·55111
87·4	1·46607	91·4	1·49410	95·4	1·52270	99·4	1·55184
87·5	1·46676	91·5	1·49481	95·5	1·52342	99·5	1·55258
87·6	1·46745	91·6	1·49552	95·6	1·52414	99·6	1·55331
87·7	1·46815	91·7	1·49623	95·7	1·52487	99·7	1·55405
87·8	1·46884	91·8	1·49694	95·8	1·52559	99·8	1·55479
87·9	1·46954	91·9	1·49765	95·9	1·52631	99·9	1·55552
88·0	**1·47024**	**92·0**	**1·49836**	**96·0**	**1·52704**	**100·0**	**1·55626**

2. Zuckerwaren.

Gewöhnlich beschränkt sich die Untersuchung auf die Bestimmung der Mineralstoffe, Prüfung auf gesundheitsschädliche Farben und Metalle, künstliche Süßstoffe und Art der Verpackungsstoffe.

1. Die Trennung der einzelnen Zuckerarten.

Sie erfolgt nach den allgemeinen Methoden S. 113—146 oder nach der folgenden Vorschrift:

Anleitung[1])

zur Ermittelung des Zuckergehaltes von zuckerhaltigen Waren.

Zunächst ist auf die Anwesenheit von Stärkezucker zu prüfen. Dieser wird als vorhanden angenommen, wenn für 100° Rechtsdrehung einer Lösung der ursprünglichen Substanz bei der Polarisation die Linksdrehung nach der Inversion nur 28° oder weniger beträgt.

Der Zuckergehalt stärkezuckerfreier Waren wird nach verschiedenen Verfahren ermittelt, je nachdem ob weniger oder mehr als 2% Invertzucker vorhanden ist. Zunächst muß daher auf Invertzucker geprüft werden, und zwar nach den Vorschriften der Anlage A 1 des vorhergehenden Abschnittes (S. 248). Da aber der Zuckergehalt nicht bekannt ist, so kann man nicht vom Gewicht ausgehen, sondern muß die Polarisation zugrunde legen. Infolgedessen ist die Vorschrift dahin zu ändern, daß nicht 10 *g* der Probe, sondern soviel als 10° Polarisation vor der Inversion entspricht, mit *Fehling*scher Lösung geprüft wird.

Ist weniger als 2% Invertzucker gefunden worden, so wird der Zuckergehalt nach dem Verfahren von *Clerget* bestimmt und die Inversion wird ebenso ausgeführt, wie unter B 1, S. 256 beschrieben worden ist.

Zur Berechnung dient die Formel:

$$Z = \frac{100\,(P - J)}{C - {}^1/_2\, t}.$$

P ist die Polarisation vor der Inversion, bezogen auf eine Lösung des Normalgewichtes zu 100 cm^3, bestimmt im 200 *mm*-Rohr.

J bedeutet die Polarisation der Lösung nach der Inversion im 200 *mm*-Rohr.

Benutzt man zur Inversion die gleiche Lösung, welche zur ersten Polarisation gedient hat, was zweckmäßig ist, so genügt es, wenn man dazu 50 cm^3 verwendet.

C ist ein Wert, der von der Menge des wirklich vorhandenen Zuckers abhängt. Diese Menge erhält man mit hinreichender Annäherung durch Vervielfältigung der abgelesenen Polarisation vor der Inversion mit der Anzahl Kubikzentimeter der zur Inversion benutzten Lösung und mit dem

[1]) Nach Anlage zum Zuckersteuergesetz.

ganzen Normalgewicht in Grammen, sowie durch Teilung mit 10.000. Die so ermittelte Menge, abgerundet auf ganze Gramme, ergibt den Betrag von C aus der nachfolgenden Tafel:

Für Gramm Zucker in 100 cm^3	ist C einzusetzen mit
1	141·85
2	141·91
3	141·98
4	142·05
5	142·12
6	142·18
7	142·25
8	142·32
9	142·39
10	142·46
11	142·52
12	142·59
13	142·66

t ist die Temperatur während der Polarisation nach der Inversion in Graden Celsius.

Beispiel: Es sei der in dem halben Normalgewichte der Ware, 13 *g*, enthaltene Zucker zu 200 cm^3 gelöst; 100 cm^3 der Lösung entsprechen also dem $^1/_4$ Normalgewichte. Die abgelesene Polarisation vor der Inversion betrage bei Benutzung des 100 *mm*-Rohres + 7°. Sie ist demnach mit 4 und, weil das 100 *mm*-Rohr verwendet wurde, nochmals mit 2 zu vervielfältigen. Es ergibt sich P = + 56°.

Von der Lösung seien 50 cm^3 zur Inversion benutzt. Die Polarisation nach der Inversion betrage bei Benutzung des 200 *mm*-Rohres — 2·35° und somit für 100 cm^3 der ursprünglichen Lösung — 4·7°; da die Lösung dem $^1/_4$ Normalgewicht entspricht, so ist J = — 18·8°. Ferner ist die Menge des Zuckers, der in den invertierten 50 cm^3 enthalten ist, $= \frac{26 \,.\, 14 \,.\, 50}{10.000} = 1·82$. Hierfür ergibt sich aus der vorstehenden Tabelle für C der Wert 141·91, und es ist die Formel zur Berechnung des Zuckergehaltes, falls die Temperatur während der Polarisation nach der Inversion 19° betrug, $Z = \frac{100\ (56 + 18·8)}{141·91 - 9·5} = 56·49$ oder abgerundet 56·5%.

Der Zuckergehalt derjenigen Waren, welche 2% oder mehr Invertzucker enthalten, ist nach dem unter 1 der Anlage B, S. 256 angegebenen Verfahren zu ermitteln. Zur Berechnung des Zuckergehaltes dient die nachstehende Tafel.

Tafel

zur Berechnung des Rohrzuckergehaltes aus der gefundenen Kupfermenge bei 2 Minuten Kochdauer.

Cu *mg*	Rohrzucker *mg*	Rohrzucker *mg*	Cu *mg*	Cu *mg*	Rohrzucker *mg*	Cu *mg*	Rohrzucker *mg*
32	16·2	72	35·0	112	55·6	152	76·0
33	16·6	73	35·4	113	56·2	153	76·5
34	17·1	74	35·9	114	56·6	154	77·0
35	17·6	75	36·4	115	57·1	155	77·5
36	18·0	76	36·9	116	57·7	156	78·0
37	18·4	77	37·3	117	58·1	157	78·6
38	18·9	78	37·8	118	58·6	158	79·0
39	19·4	79	38·3	119	59·2	159	79·6
40	19·9	80	38·8	120	59·7	160	80·1
41	20·3	81	39·2	121	60·1	161	80·6
42	20·8	82	39·7	122	60·7	162	81·1
43	21·3	83	40·2	123	61·2	163	81·6
44	21·8	84	40·7	124	61·7	164	82·2
45	22·2	85	41·2	125	62·2	165	82·7
46	22·7	86	41·7	126	62·7	166	83·2
47	23·2	87	42·2	127	63·2	167	83·7
48	23·7	88	42·7	128	63·8	168	84·2
49	24·1	89	43·1	129	64·2	169	84·7
50	24·6	90	44·6	130	64·7	170	85·2
51	25·1	91	45·0	131	65·3	171	85·8
52	25·6	92	45·5	132	65·7	172	86·3
53	26·0	93	46·0	133	66·2	173	86·8
54	26·5	94	46·5	134	66·8	174	87·3
55	27·0	95	47·0	135	67·3	175	87·8
56	27·4	96	47·5	136	67·7	176	88·4
57	27·8	97	48·0	137	68·3	177	88·8
58	28·3	98	48·6	138	68·8	178	89·4
59	28·8	99	49·0	139	69·3	179	89·9
60	29·3	100	49·5	140	69·8	180	90·4
61	29·7	101	50·1	141	70·3	181	90·9
62	30·2	102	50·5	142	70·8	182	91·4
63	30·7	103	51·0	143	71·4	183	92·0
64	31·2	104	51·6	144	71·8	184	92·4
65	31·6	105	52·1	145	72·3	185	92·9
66	32·1	106	52·5	146	72·9	186	93·5
67	32·6	107	53·1	147	73·3	187	94·1
68	33·1	108	53·7	148	73·9	188	94·5
69	33·5	109	54·1	149	74·4	189	95·1
70	34·0	110	54·6	150	75·0	190	95·6
71	34·5	111	55·1	151	75·4	191	96·1

Cu *mg*	Rohrzucker *mg*	Cu *mg*	Rohrzucker *mg*	Cu *mg*	Rohrzucker *mg*	Cu *mg*	Rohrzucker *mg*
192	96·6	223	113·2	254	130·1	285	147·2
193	97·2	224	113·8	255	130·6	286	147·7
194	97·8	225	114·4	256	131·2	287	148·3
195	98·2	226	114·9	257	131·7	288	148·9
196	98·8	227	115·4	258	132·2	289	149·3
197	99·4	228	116·0	259	132·8	290	149·9
198	99·8	229	116·5	260	133·4	291	150·5
199	100·4	230	117·0	261	133·9	292	151·0
200	101·0	231	117·6	262	134·4	293	151·6
201	101·5	232	118·1	263	135·0	294	152·2
202	102·0	233	118·7	264	135·6	295	152·8
203	102·5	234	119·2	265	136·0	296	153·3
204	103·1	235	119·7	266	136·6	297	153·9
205	103·6	236	120·3	267	137·2	298	154·5
206	104·1	237	120·8	268	137·7	299	155·0
207	104·7	238	121·4	269	138·2	300	155·6
208	105·3	239	121·9	270	138·8	301	156·2
209	105·7	240	122·5	271	139·4	302	156·7
210	106·3	241	123·0	272	139·8	303	157·3
211	106·9	242	123·5	273	140·4	304	157·9
212	107·4	243	124·1	274	141·0	305	158·5
213	107·9	244	124·6	275	141·6	306	158·9
214	108·5	245	125·2	276	142·0	307	159·5
215	109·0	246	125·7	277	142·6	308	160·1
216	109·5	247	126·3	278	143·2	309	160·6
217	110·0	248	126·8	279	143·7	310	161·2
218	110·6	249	127·4	280	144·3	311	161·8
219	111·2	250	127·9	281	144·9	312	162·4
220	111·6	251	128·4	282	145·4		
221	112·2	252	129·0	283	146·0		
222	112·8	253	129·5	284	146·6		

Hierauf wird der Prozentgehalt an Zucker berechnet und als Rohrzucker in Prozenten der Probe ausgedrückt. Geringere Bruchteile als volle Zehntelprozente bleiben unberücksichtigt.

Bei Anwesenheit von Stärkezucker kann zur Bestimmung von Rohrzucker auch so verfahren werden, wie im Abschnitt „Gemüse und Obstdauerwaren“ angegeben worden ist (S. 330).

Bei der Herstellung der Lösung ist es in der Regel nicht zulässig, die festen Proben (Schokolade usw.) einfach mit Wasser in einem Kölbchen bis zur Marke aufzufüllen, weil auch die unlöslichen Bestandteile einen gewissen Raum einnehmen und dieser Fehler oft zu erheblich sein würde.

ist daher in der Regel die Lösung erst nach dem Filtrieren und dem Auswaschen des Rückstandes, sowie nach Zusatz der Klärungsmittel zu einer bestimmten Raummenge aufzufüllen, oder durch die doppelte Polarisation einer auf 100 *cm*³ und auf 200 *cm*³ verdünnten Lösung die Raummenge der unlöslichen Anteile in Rechnung zu bringen. (Siehe Abschnitt „Schokolade".)

Für die Klärung können bestimmte Vorschriften nicht gegeben werden. Gute Dienste leistet Tonerdebrei oder Bleiessig mit folgendem Zusatz einer gleich großen Menge kaltgesättigter Alaunlösung. Für die Inversionspolarisation erfolgt die Klärung zweckmäßig durch mit Salzsäure ausgewaschene Knochenkohle, deren Aufnahmevermögen für Zucker vorher bestimmt worden ist.

a) Karamellen (Bonbons, Boltjes) mit Ausnahme der nicht vergütungsfähigen Gummibonbons.

Bei Karamellen, welche als stärkezuckerhaltig bezeichnet worden sind, ist festzustellen, daß sie mindestens 80° Rechtsdrehung und mindestens 50% Zucker nach der vorstehend angegebenen *Clerget*schen Formel zeigen. Anderenfalls sind sie als nicht vergütungsfähig zu bezeichnen.

Karamellen, welche als stärkezuckerfrei angemeldet sind, müssen zunächst auf Stärkezuckergehalt geprüft werden. Ist kein Stärkezucker vorhanden, so erfolgt die Untersuchung ähnlich wie bei den Raffinadezeltchen.

b) Dragees (überzuckerte Samen und Kerne, auch unter Zusatz von Mehl).

Dragees werden ähnlich wie Schokolade untersucht.

c) Raffinadezeltchen (Zucker in Zeltchenform, auch mit Zusatz von ätherischen Ölen oder Farbstoffen).

Man löst das Normalgewicht im Meßkolben von 100 *cm*³ Raumgehalt, füllt zur Marke auf und filtriert erst nachträglich.

d) Schaumwaren (Gemenge von Zucker mit einem Bindemittel, wie Eiweiß, nebst Geschmacks- oder Heilmittelzutaten).

Die zerkleinerte Probe wird wiederholt in der Wärme mit 70%igem Alkohol ausgezogen. Die Auszüge werden filtriert; der Rückstand ist auf dem Filter mit 70%igem Alkohol auszuwaschen. Die vereinigten Filtrate sind durch Eindampfen auf dem Wasserbade völlig von Alkohol befreit; der Rückstand wird mit Wasser in ein Kölbchen von 100 *cm*³ Raumgehalt gespült. Nach Zusatz von Bleiessig und der doppelten Menge kaltgesättigter Alaunlösung wird bis zur Marke aufgefüllt und filtriert.

e) Dessertbonbons (Fondants usw. aus Zucker und Einlagen von Schachtelmus, Früchten usw.).

Die Probe wird in einem Meßkolben von 100 *cm*³ Raumgehalt mit Wasser übergossen. Bleibt wenig Rückstand, so kann ohne weiteres zur

Marke aufgefüllt werden; anderenfalls muß die Polarisation wie unter „Schokolade“ bestimmt werden.

f) Marzipanmasse und Marzipanwaren (Zucker mit zerquetschten Mandeln).

Die Masse wird zweckmäßig mit kaltem Wasser in einer Porzellanschale zerrieben. Das Gemisch wird durch feine Gaze oder durch einen Wattebausch filtriert und der Rückstand mit Wasser nachgewaschen. Das milchig getrübte Filtrat wird geklärt und entsprechend aufgefüllt. Marzipan ist in der Regel frei von Invertzucker.

g) Kakes und ähnliche Backwaren.

Man übergießt das halbe Normalgewicht der fein zerriebenen Probe in einem Kolben von ungefähr 50 *cm*³ Raumgehalt mit etwa 30 *cm*³ kaltem Wasser und läßt das Ganze unter öfterem Umschwenken 1 Stunde stehen. Nach dieser Zeit filtriert man die überstehende Flüssigkeit mit Hilfe einer sehr schwach wirkenden Saugpumpe, zieht den Rückstand im Kolben noch mehrmals kürzere Zeit mit kaltem Wasser aus, bringt schließlich die unlöslichen Bestandteile mit auf das Filter und wäscht mehrmals mit kaltem Wasser nach. Die vereinigten klaren Auszüge werden auf 100 *cm*³ aufgefüllt. Der Zuckergehalt der Lösung wird in allen Fällen nach dem Verfahren für solche Waren ermittelt, welche 2% Invertzucker und darüber enthalten.

h) Verzuckerte Süd- und einheimische Früchte glasiert oder kandiert; in Zuckerauflösungen eingemachte Früchte (Schachtelmus, Pasten, Kompott, Gallerte).

Siehe S. 330.

i) Zucker- und alkoholhaltige Flüssigkeiten.

Bei der Polarisation braucht der Alkohol nicht entfernt zu werden, vor der Inversion muß dies jedoch geschehen.

k) Flüssiger Raffinadezucker.

Der flüssige Raffinadezucker enthält in der Regel Invertzucker. Die Untersuchung kann sich darauf beschränken, festzustellen, daß mindestens ein Zuckergehalt von insgesamt 75% vorhanden ist.

l) Invertzuckersirup.

Die Feststellung des Zuckergehaltes erfolgt nach dem unter 1 in Anlage B angegebenen Verfahren (S. 256).

m) Eingedickte Milch.

100 *g* der Milchprobe werden mit Wasser zu einer leicht flüssigen Masse verrührt und in einen Meßkolben von 500 *cm*³ Raumgehalt gespült. Die Flüssigkeit wird darauf mit etwa 20 *cm*³ Bleiessig versetzt, mit Wasser zu 500 *cm*³ aufgefüllt, durchgeschüttelt und filtriert.

Vom Filtrat werden 75 cm^3 in einem Kolben von 100 cm^3 Raumgehalt gebracht und, wenn erforderlich, mit etwas Tonerdebrei versetzt. Darauf wird mit Wasser zur Marke aufgefüllt, filtriert und nach Anlage C polarisiert.

Ferner werden 75 cm^3 des Filtrats mit 5 cm^3 Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1·19 versetzt, nach Vorschrift der Anlage B invertiert, zu 100 cm^3 aufgefüllt und filtriert, worauf wiederum die Polarisation für 20° C bestimmt wird. Hiernach berechnet sich der Gehalt Z der eingedickten Milch an Rohrzucker aus der Gleichung

$$Z = 1{\cdot}25\ (1{\cdot}016 \,.\, P - J),$$

worin P die Polarisation vor der Inversion, J die nach der Inversion bedeutet.

Beispiel: Die Polarisation P sei + 28·10; die Polarisation J werde zu − 0·30 ermittelt. Setzt man diese beiden Zahlenwerte für P und J in die eben angegebene Formel, so erhält man

$$Z = 1{\cdot}25\ (1{\cdot}016 \,.\, 28{\cdot}10 + 0{\cdot}30) = 36{\cdot}06.$$

Demnach beträgt der Gehalt der eingedickten Milch an Rohrzucker 36·1%.

2. Bestimmung der Mineralstoffe.

Sie erfolgt nach den allgemeinen Untersuchungsmethoden S. 152. Bei hohem Aschengehalt ist auch die Art näher zu prüfen.

3. Nachweis künstlicher Süßstoffe.

Er erfolgt nach den im Abschnitt „Süßstoffe" angegebenen Verfahren.

4. Prüfung auf gesundheitsschädliche Farben.

Sie erfolgt in ähnlicher Weise wie die der Zuckerwaren unter 6.

5. Nachweis von Teerfarbstoffen.

Teerfarbstoffe werden mit Amylalkohol, Äther, Alkohol oder einem anderen geeigneten Lösungsmittel ausgezogen. Bei der weiteren Prüfung der Farbstoffe verfährt man wie bei der Untersuchung der Farbstoffe des Weines.

Zum Nachweis von Dinitrokresolkalium (Safransurrogat) und Pikrinsäure kann man sich folgender Verfahren bedienen.

Dinitrokresolkalium. Man zieht den Farbstoff mit Alkohol aus, verdampft den Alkohol und erwärmt den Rückstand mit einigen Kubikzentimetern 10%iger reiner Salzsäure. Das Dinitrokresolkalium wird hierdurch nach einigen Minuten, Pikrinsäure sofort entfärbt. Wird dann die erkaltete Flüssigkeit mit etwas Zink versetzt und, ohne zu erwärmen, stehen gelassen, so erscheint nach höchstens zwei Stunden der Inhalt hellblutrot, wenn Dinitrokresolkalium, schön blau, wenn Pikrinsäure zugegen ist.

Pikrinsäure. Soll hierauf geprüft werden, so wird der mit Alkohol, Äther oder Amylalkohol hergestellte Auszug zunächst auf Geschmack

geprüft. Pikrinsäure schmeckt stark bitter. Seide und Wolle werden durch Pikrinsäure schön gelb gefärbt. Mit Kaliumhydroxyd und Cyankalium gibt Pikrinsäure eine blutrote Färbung (Isopurpursäure); auch nach Zusatz von Traubenzucker und Alkohol tritt eine rote Färbung auf.

6. Nachweis von Mineralfarben und gesundheitsschädlichen Metallen.

Zur Untersuchung auf Arsen und Zinn sind besondere amtliche Verfahren angegeben, sonst ist nach dem allgemeinen Gang der Analyse zu verfahren. Man zerstört die organische Substanz entweder mit Kaliumchlorat und Salzsäure oder mit konzentrierter Schwefelsäure und rauchender Salpetersäure.

Verfahren[1]) zur Feststellung des Vorhandenseins von Arsen und Zinn in gefärbten Nahrungs- oder Genußmitteln.

1. Feste Körper.

Von festen Nahrungs- oder Genußmitteln, welche in der Masse gefärbt sind, werden 20 *g* in Arbeit genommen, bei oberflächlich gefärbten wird die Farbe abgeschabt und es ist so viel des Abgeschabten in Arbeit zu nehmen, als einer Menge von 20 *g* des Nahrungs- oder Genußmittels entspricht. Nur wenn solche Mengen nicht verfügbar sind, darf auch weniger genommen werden.

Die Probe ist durch Reiben oder in einer anderen geeigneten Weise fein zu zerteilen und in einer Schale aus echtem Porzellan mit so viel reiner Salzsäure von 1·10—1·12 spez. Gew. und so viel destilliertem Wasser zu versetzen, daß das Verhältnis der Salzsäure zum Wasser etwa wie 1 zu 3 ist. In der Regel werden 25 cm^3 Salzsäure und 75 cm^3 Wasser dem Zwecke entsprechen.

Man setzt nun 0·5 *g* chlorsaures Kalium hinzu, erhitzt die Schale auf einem Wasserbad und fügt von 5 zu 5 Minuten weitere kleine Mengen von chlorsaurem Kalium zu, bis die Flüssigkeit hellgelb, gleichförmig und dünnflüssig geworden ist. In der Regel werden im ganzen 2 *g* genügen. Das verdampfende Wasser ist dabei von Zeit zu Zeit zu ersetzen. Ist die Farbe hellgelb geworden, so fügt man nochmals 0·5 *g* chlorsaures Kalium hinzu und nimmt die Schale vom Wasserbade. Nach völligem Erkalten bringt man ihren Inhalt auf ein Filter, filtriert die Flüssigkeit in eine Kochflasche von etwa 400 cm^3 und leitet so lange Kohlensäure hindurch, bis der Geruch nach Chlor vollständig verschwunden ist. Das Filter wäscht man mit heißem Wasser gut aus, verdampft das Waschwasser im Wasserbade bis auf etwa 50 cm^3 und vereinigt diese Flüssigkeit nebst einem etwa entstandenen Niederschlage mit dem Hauptfiltrate. Man beachte, daß die Gesamtmenge der Flüssigkeit mindestens das Sechsfache der angewendeten Salzsäure betragen muß.

---

[1]) Nach Anlage zum Farbengesetz.

Man leitet nun durch die auf 60—80° C erwärmte und auf dieser Temperatur erhaltene Flüssigkeit 3 Stunden lang einen langsamen Strom von reinem Schwefelwasserstoffgas, läßt die Flüssigkeit unter fortwährendem Einleiten erkalten und stellt die Kochflasche, mit Filtrierpapier leicht bedeckt, mindestens 12 Stunden an einen mäßig warmen Ort.

Ist ein Niederschlag entstanden, so ist er auf ein Filter zu bringen, mit schwefelwasserstoffhaltigem Wasser auszuwaschen und noch feucht mit mäßig gelbem Schwefelammonium zu behandeln, welches vorher mit etwas ammoniakhaltigem Wasser verdünnt worden ist. In der Regel werden 4 *cm*³ Schwefelammonium, 2 *cm*³ Ammoniakflüssigkeit von etwa 0·96 spez. Gew. und 15 *cm*³ Wasser dem Zwecke entsprechen. Den nicht gelösten Rückstand wäscht man mit schwefelammoniumhaltigem Wasser aus und verdampft das Filtrat und das Waschwasser in einem tiefen Porzellanschälchen von etwa 6 *cm* Durchmesser bei gelinder Wärme bis zur Trockene. Das Zurückbleibende übergießt man, unter Bedeckung der Schale mit einem Uhrglase, mit etwa 3 *cm*³ roter, rauchender Salpetersäure und dampft sie bei gelinder Wärme behutsam ab. Erhält man hierbei einen im feuchten Zustande gelb aussehenden Rückstand, so schreitet man zur weiteren Prüfung. Ist der Rückstand dagegen noch dunkel, so muß er so lange mit roter, rauchender Salpetersäure behandelt werden, bis er in feuchtem Zustande gelb aussieht.

Man versetzt den feuchten Rückstand mit fein zerriebenem kohlensauren Natrium, bis die Masse stark alkalisch reagiert, fügt 2 *g* eines Gemenges von 3 Teilen kohlensaurem und 1 Teil salpetersaurem Natrium hinzu und mischt unter Zusatz von etwas Wasser, so daß eine gleichartige, breiige Masse entsteht. Die Masse wird in dem Schälchen getrocknet und vorsichtig bis zum Sintern oder beginnenden Schmelzen erhitzt. Eine weitergehende Steigerung der Temperatur ist zu vermeiden. Man erhält so eine farblose oder weiße Masse. Sollte dies ausnahmsweise nicht der Fall sein, so fügt man noch etwas salpetersaures Natrium hinzu, bis der Zweck erreicht ist.[1])

Die Schmelze weicht man mit Wasser auf und filtriert durch ein nasses Filter. Ist Zinn zugegen, so bleibt dieses auf dem Filter als weißes Zinnoxyd, während das Arsen als arsensaures Natrium im Filtrat enthalten ist. Wenn ein Rückstand auf dem Filter verblieben ist, so muß berücksichtigt werden, daß auch in das Filtrat kleine Mengen Zinn übergegangen sein können. Man wäscht den Rückstand einmal mit kaltem Wasser, dann dreimal mit einer Mischung von gleichen Teilen Wasser und Alkohol aus, dampft die Waschflüssigkeit so weit ein, daß sie mit dem Filtrat etwa 10 *cm*³ beträgt und fügt verdünnte Salpetersäure tropfenweise hinzu, bis die Flüssigkeit eben sauer reagiert. Sollte hierbei ein geringer Niederschlag von Zinnoxydhydrat entstehen, so filtriert man ihn ab und wäscht ihn wie oben angegeben aus.

[1]) Sollte die Schmelze trotzdem schwarz bleiben, so rührt dies in der Regel von einer geringen Menge Kupfer her, da Schwefelkupfer in Schwefelammonium nicht ganz unlöslich ist.

Wegen des Nachweises von Zinn vgl. weiter unten.

Zum Nachweise des Arsens wird es zunächst in arsenmolybdänsaures Ammonium übergeführt. Zu diesem Zwecke vermischt man die mit Salpetersäure angesäuerte, durch Erwärmen von Kohlensäure und salpetriger Säure befreite, klare (nötigenfalls filtrierte) Lösung, welche etwa 15 cm^3 betragen wird, in einem Kochfläschchen mit der gleichen Menge einer Auflösung von molybdänsaurem Ammonium in Salpetersäure[1] und läßt zunächst 3 Stunden ohne Erwärmen stehen. Enthielt die Flüssigkeit infolge mangelhaften Auswaschens des Schwefelwasserstoffniederschlags etwas Phosphorsäure, so würde sich diese als phosphormolybdänsaures Ammonium abscheiden, während bei richtiger Ausführung der Operationen ein Niederschlag nicht entsteht.

Die klare oder filtrierte Flüssigkeit erwärmt man auf dem Wasserbade, bis sie etwa 5 Minuten lang die Temperatur des Wasserbades angenommen hat.[2] Ist Arsen vorhanden, so entsteht ein gelber Niederschlag von arsenmolybdänsaurem Ammonium, neben welchem sich meist auch weiße Molybdänsäure ausscheidet. Man gießt die Flüssigkeit nach einstündigem Stehen durch ein Filterchen ab, wäscht den Rückstand zweimal mit kleinen Mengen einer Mischung von 100 Teilen Molybdänlösung, 20 Teilen Salpetersäure von 1·2 spezifischem Gewicht und 80 Teilen Wasser aus, löst ihn dann unter Erwärmen in 2 bis 4 cm^3 wässeriger Ammonflüssigkeit von etwa 0·96 spezifischem Gewicht auf, fügt etwa 4 cm^3 Wasser hinzu, gießt, wenn erforderlich, nochmals durch das Filterchen, setzt $^1/_4$ Raumteil Alkohol und dann 2 Tropfen Chlormagnesium-Chlorammoniumlösung hinzu. Das Arsen scheidet sich sogleich oder beim Stehen in der Kälte als weißes, mehr oder weniger kristallinisches arsensaures Ammonium-Magnesium ab, welches abzufiltrieren und mit einer möglichst geringen Menge einer Mischung von 1 Teil Ammoniak, 2 Teilen Wasser und 1 Teil Alkohol auszuwaschen ist.

Man löst darauf den Niederschlag in einer möglichst kleinen Menge verdünnter Salpetersäure, verdampft die Lösung bis auf einen ganz kleinen Rest und bringt einen Tropfen auf ein Porzellanschälchen, einen anderen auf ein Objektglas. Zu ersterem fügt man einen Tropfen einer Lösung von salpetersaurem Silber, dann vom Rande aus einen Tropfen wässeriger Ammonflüssigkeit von 0·96 spezifischem Gewicht; ist Arsen vorhanden, so muß sich in der Berührungszone ein rotbrauner Streifen von arsensaurem Silber zeigen. Den Tropfen auf dem Objektglase macht man mit einer möglichst kleinen Menge wässeriger Ammonflüssigkeit alkalisch; ist Arsen vorhanden, so entsteht sogleich oder sehr bald ein

---

[1]) Die oben bezeichnete Flüssigkeit wird erhalten, indem man 1 Teil Molybdänsäure in 4 Teilen Ammoniak von etwa 0·96 spez. Gewicht löst und die Lösung in 15 Teile Salpetersäure von 1·2 spez. Gewicht gießt. Man läßt die Flüssigkeit [illegible] einige Tage in mäßiger Wärme stehen und zieht sie, wenn nötig, klar ab.

[2]) Am sichersten ist es, das Erhitzen so lange fortzusetzen, bis sich Molybdänsäure auszuscheiden beginnt.

Niederschlag von arsensaurem Ammonmagnesium, der, unter dem Mikroskop betrachtet, aus spießigen Kriställchen besteht.

Zum Nachweise des Zinns sind die das Zinnoxyd enthaltenden Filterchen zu trocknen, in einem Porzellantiegelchen einzuäschern und zu wiegen.[1] Nur wenn der Rückstand (nach Abzug der Filterasche) mehr als 2 *mg* beträgt, ist eine weitere Untersuchung auf Zinn vorzunehmen. In diesem Falle bringt man den Rückstand in ein Porzellanschiffchen, schiebt dieses in eine Röhre von schwer schmelzbarem Glase, welche vorn zu einer langen Spitze mit feiner Öffnung ausgezogen ist, und erhitzt in einem Strome reinen, trockenen Wasserstoffgases bei allmählich gesteigerter Temperatur, bis kein Wasser mehr austritt und alles Zinnoxyd reduziert ist. Man läßt im Wasserstoffstrom erkalten, nimmt das Schiffchen aus der Röhre, neigt es ein wenig, bringt wenige Tropfen Salzsäure von 1·10 bis 1·12 spezifischem Gewicht in den unteren Teil, dann schiebt man es wieder in die Röhre, leitet einen langsamen Wasserstoffstrom hindurch, neigt sie so, daß die Salzsäure im Schiffchen mit dem reduzierten Zinn in Berührung kommt, und erhitzt ein wenig. Es löst sich dann das Zinn unter Entbindung von etwas Wasserstoff in der Salzsäure zu Zinnchlorür. Man läßt im Wasserstoffstrom erkalten, nimmt das Schiffchen aus der Röhre, bringt nötigenfalls noch einige Tropfen einer Mischung von drei Teilen Wasser und einem Teil Salzsäure hinzu und prüft einige Tropfen der Lösung auf Zinn mit Quecksilberchlorid, Goldchlorid und Schwefelwasserstoff; mit letzterem vor und nach Zusatz einer geringen Menge Bromsalzsäure oder Chlorwasser.

Bleibt beim Behandeln des Schiffcheninhaltes ein schwarzer Rückstand, der in Salzsäure unlöslich ist, so kann dieser Antimon sein.

2. Flüssigkeiten, Fruchtgelees und dergl.

Von Flüssigkeiten, Fruchtgelees und dergleichen ist eine solche Menge abzuwiegen, daß ihre Trockensubstanz etwa 20 *g* beträgt, also z. B. von Himbeersirup etwa 30 *g*, von Johannisbeergelee etwa 35 *g*, von Rotwein, Essig oder dergleichen etwa 800 bis 1000 *g*. Nur wenn solche Mengen nicht verfügbar sind, darf die Prüfung auch mit einer geringeren Menge vorgenommen werden.

Fruchtsäfte, Gelees und dergleichen werden wie feste Stoffe behandelt; dünne, nicht sauer reagierende Flüssigkeiten konzentriert man durch Abdampfen und behandelt den Rückstand ebenso; dünne, sauer reagierende Flüssigkeiten aber destilliert man bis auf einen geringen Rückstand ab und zerstört diesen ebenfalls, wie vorher beschrieben ist. In das Destillat leitet man nach Zusatz von etwas Salzsäure ebenfalls Schwefelwasserstoff und vereinigt einen etwa entstehenden Niederschlag mit dem aus dem Rückstand.

[1] Sollte der Rückstand infolge eines Gehaltes an Kupferoxyd schwarz sein, so erwärmt man ihn mit Salpetersäure, verdampft im Wasserbad zur Trockene, setzt einen Tropfen Salpetersäure und etwas Wasser zu, filtriert, wäscht aus, glüht und wiegt dann erst.

Fruchtsäfte und Gelees

(einschließlich Obstkraut, Marmeladen, Pasten und Limonaden).

Die Gegenstände dieses Abschnittes bestehen aus dem Safte von Früchten oder Fruchtteilen oder aus zerquetschten oder gekochten Früchten mit oder ohne Zusatz von Zucker.

Fruchtsäfte sind klar, von dickflüssiger bis sirupartiger Konsistenz (Fruchtsirupe); die Gelees sind gallertartig, klar oder durchscheinend; Marmeladen sind von breiartiger, nicht klarer Beschaffenheit; Obstpasten sind steif; Limonaden sind Mischungen von Fruchtsäften mit Wasser und Zucker, Brauselimonaden enthalten außerdem noch Kohlensäure.

Zusammensetzung von Fruchtsäften.[1])

Bezeichnung	Zahl der Analysen	Spez. Gewicht	Extrakt	Invertzucker	Saccharose	Zuckerfreies Extrakt	Säure-Äpfelsäure	Mineralstoffe	Alkalität d. Asche = cm^3 N.-Säure f. 100 g Saft	Spez. Drehung des invertierten Extraktes
			in Gewichtsprozenten							
Himbeersirup . . .	45	1·3227	66·26	22·39	42·25	1·82	0·598	0·251	2·49	—19·8
Erdbeersirup . . .	7	1·3075	62·82	23·55	37·72	1·60	0·315	0·215	1·95	—19·5
Johannisbeersirup .	6	1·3274	65·57	30·16	31·45	—	1·055	0·284	2·27	—
Kirschsirup	6	1·3387	68·95	—		—	0·401	0·267	2·34	—19·7
Himbeersirup mit Wasser und Nachpresse . .	20	1·2812	58·36		—	—		0·132	1·23	—19·7

1. Fruchtsäfte und Fruchtsirupe.

1. Bestimmung des spezifischen Gewichtes.

Das spezifische Gewicht wird mittelst des Pyknometers bei 15° bestimmt.

2. Bestimmung des Wassers.

Das Wasser kann nicht direkt bestimmt werden, da beim Erhitzen der Zucker durch die freien Fruchtsäuren invertiert und dadurch der Extraktgehalt erhöht wird.

Das Wasser muß deshalb indirekt ermittelt werden, indem man den Extraktgehalt aus dem spezifischen Gewicht berechnet; hierbei muß

[1]) *J. König*, Unters. d. landw. u. gewerbl. wichtigen Stoffe. S. 748 (1906).

aber auch der Alkoholgehalt berücksichtigt werden, welcher bei der Gärung der Fruchtsäfte entsteht. Der Alkohol wird in üblicher Weise im Destillat aus dem spezifischen Gewicht nach der Alkoholtabelle von *Windisch* (siehe Abschn. „Wein") ermittelt. Das spezifische Gewicht (1) wird um das spezifische Gewicht des Alkoholdestillates vermindert und aus dieser Zahl der Gehalt an Extrakt aus der Extrakttabelle von *Windisch* (S. 268) entnommen.

Der Wassergehalt wird dann in der Weise berechnet, daß Extrakt- und Alkoholgehalt von 100 abgezogen werden.

Bei Säften, deren Extrakt zum größten Teil aus freien Säuren besteht, ist es besser, den Extraktgehalt nicht nach der Zuckertabelle von *Windisch*, sondern nach besonderen Tabellen auf die entsprechenden Säuren umzurechnen. So hat *Farnsteiner* [1]) folgende Tabelle für zuckerfreien Zitronensaft berechnet:

Spez. Gew. $\frac{15^0}{15^0}$	In 100 cm^3 $\left(\frac{15^0}{4^0}\right)$ Zitronensäure (wasserfrei)	Spez. Gew. $\frac{15^0}{15^0}$	In 100 cm^3 $\left(\frac{15^0}{4^0}\right)$ Zitronensäure	Spez. Gew. $\frac{15^0}{15^0}$	In 100 cm^3 $\left(\frac{15^0}{4^0}\right)$ Zitronensäure	Spez. Gew. $\frac{15^0}{15^0}$	In 100 cm^3 $\left(\frac{15^0}{4^0}\right)$ Zitronensäure
1·020	4·762	1·030	7·165	1·040	9·582	1·050	12·015
1·021	5·001	1·031	7·406	1·041	9·825	1·051	12·259
1·022	5·241	1·032	7·647	1·042	10·068	1·052	12·503
1·023	5·481	1·033	7·888	1·043	10·311	1·053	12·748
1·024	5·721	1·034	8·130	1·044	10·544	1·054	12·992
1·025	5·961	1·035	8·372	1·045	10·797	1·055	13·237
1·026	6·202	1·036	8·614	1·046	11·040	1·056	13·482
1·027	6·442	1·037	8·856	1·047	11·284	1·057	13·727
1·028	6·683	1·038	9·098	1·048	11·528	1·058	13·972
1·029	6·924	1·039	9·340	1·049	11·771	1·059	14·217

Interpolationstafel

Einheiten der 4. Dezimale	Zitronensäuremenge	Einheiten der 4. Dezimale	Zitronensäuremenge	Einheiten der 4. Dezimale	Zitronensäuremenge
1	0·024	4	0·096	7	0·169
2	0·048	5	0·120	8	0·193
3	0·072	6	0·145	9	0·217

3. Bestimmung des Alkohols.

50 cm^3 Saft werden mit 100 cm^3 Wasser verdünnt, neutralisiert und destilliert. Im Destillat wird der Alkohol mittelst Pyknometers bestimmt (Tabelle von *Windisch*, siehe Abschn. „Wein").

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm., Bd. 6, S. 1 (1903); S. 593 (1904).

4. Bestimmung der Asche und der Alkalität der Asche.

25 *cm*³ Saft werden in geräumiger Platinschale bei niedriger Flamme am besten mit einem Spiritusbrenner verkohlt. Die Kohle wird mit Wasser ausgezogen und nebst Filter weißgebrannt. Der wässerige Auszug wird wieder zugefügt, das Ganze zur Trockene eingedampft und der Rückstand vorsichtig geglüht und schließlich gewogen.

Zur Asche gibt man 25 *cm*³ $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure und erhitzt auf dem Wasserbade, um die Kohlensäure auszutreiben. Dann bringt man die Flüssigkeit in ein Becherglas und titriert mit $^1/_{10}$-Normalalkali die überschüssige Säure zurück.

Unter Alkalität versteht man die Kubikzentimeter Normalschwefelsäure, welche zur Neutralisierung der Asche von 100 *g* Saft erforderlich sind.

Die Phosphorsäure wird in der Asche in üblicher Weise bestimmt. (Siehe allgemeine Untersuchungsmethoden, S. 153).

5. Bestimmung der freien Säuren.

a) 25 *cm*³ Saft werden mit Wasser stark verdünnt und mit $^1/_4$-Normalalkali (Phenolphtaleïn als Indikator) titriert. Die verbrauchten Kubikzentimeter werden auf Äpfelsäure oder wasserfreie Zitronensäure umgerechnet. 1 *cm*³ $^1/_4$-Normalalkali entspricht 0·016 *g* wasserfreier Zitronensäure und 0·0167 *g* Äpfelsäure.

b) Ältere alkoholhaltige Säfte, namentlich Zitronensäfte, enthalten die Zitronensäure teilweise in Esterform. Die Gesamtsäure wird dann nach *K. Farnsteiner*[1]) bestimmt, indem man 10 *cm*³ Saft mit soviel $^1/_2$-Normalalkali versetzt, daß noch 10 *cm*³ Lauge im Überschuß vorhanden sind. Nach mehrstündiger Einwirkung bei gewöhnlicher Temperatur in verschlossenem Kölbchen wird zurücktitriert. Die Differenz mit der vorherigen Bestimmung *a)* wird als organisch gebundene Zitronensäure angegeben (Zitronensäureäthylester).

c) Anorganisch gebundene Zitronensäure.

Diese wird aus der Alkalität der Mineralstoffe berechnet.

6. Extraktgehalt.

Das Extrakt wird, wie unter 1 (Bestimmung des Wassers) angegeben worden ist, bestimmt.

7. Bestimmung des Extraktrestes.

Unter Extraktrest versteht man den Rest, welcher bleibt, wenn man vom Extraktgehalt den Zuckergehalt abzieht.

Bei Zitronensäften versteht *Farnsteiner* unter Extraktrest den Rest, welcher bleibt, wenn man von dem Gesamtextrakt den Gehalt an freier Zitronensäure und Gesamtzucker abzieht. Der totale Extraktrest wird erhalten, wenn man auch noch die gebundene Zitronensäure (siehe 4. u. 5.) abzieht.

---

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. S. 9 (1903).

8. Stickstoffgehalt.

Er wird in ca. 50 *cm*³ Saft nach *Kjeldahl* bestimmt.

9. Künstliche Süßstoffe. Siehe dort.

10. Bestimmung der Zuckerarten.

Zur Bestimmung des Zuckers werden 10 *g* Substanz in 400 *cm*³ Wasser gelöst, mit Bleiessig entfärbt und auf 500 *cm*³ aufgefüllt. 400 *cm*³ des Filtrates werden mit festem phosphorsauren Natrium entbleit und auf 800 *cm*³ aufgefüllt; ist Alkohol vorhanden, so ist dieser zu entfernen, nachdem die Flüssigkeit neutralisiert worden ist. Ob diese Verdünnung annähernd die richtige ist, ergibt sich aus der Extraktbestimmung, jedenfalls darf nicht mehr als wie 1% Zucker in der Lösung enthalten sein.

a) Invertzucker. Dieser wird nach *Meissl*, wie unter den allgemeinen Untersuchungsmethoden angegeben worden ist, bestimmt (S. 127).

b) Rohrzucker. 75 *cm*³ werden mit 5 *cm*³ Salzsäure vom spez. Gew. 1·19 fünf Minuten lang auf 67—70° erwärmt, dann rasch abgekühlt, mit Soda neutralisiert und auf 100 *cm*³ aufgefüllt. In 25 *cm*³ wird dann nach *E. Meissl* (S. 127) der Gesamtzucker bestimmt. Die Bestimmungen *a)* und *b)* werden auf 100 *g* Substanz berechnet; die Differenz beider mit 0·95 multipliziert, ergibt die Menge Rohrzucker, welche in 100 *g* Substanz enthalten ist.

c) Dextrin. Zur Bestimmung werden 75 *cm*³ der Stammlösung mit 7·5 *cm*³ Salzsäure (S = 1·125) versetzt und 3 Stunden am Rückflußkühler im kochenden Wasserbade erhitzt. Nach dem Erkalten wird schnell neutralisiert, mit Wasser auf 100 *cm*³ aufgefüllt und in 25 *cm*³ dieser Lösung der Zuckergehalt nach *Allihn* (S. 124) bestimmt.

Die Differenz von *c—b* multipliziert mit 0·9 ergibt die Menge Dextrin.

d) Stärkesirup. Ist außer Rohrzucker und Invertzucker auch Stärkesirup vorhanden, welcher aus Traubenzucker und Dextrin besteht, so müssen die Zucker nach den allgemeinen Untersuchungsmethoden bestimmt werden (S. 114).

e) Die Polarisation gibt ebenfalls schnellen Aufschluß über die Zuckerarten.

Hierfür werden 20 *g* Saft mit 30 *g* Wasser und zur Entfärbung mit genügend Tierkohle versetzt. Nachdem die Mischung farblos geworden ist, wird filtriert und die Kohle mit heißem Wasser ausgewaschen, bis 100 *cm*³ Filtrat gewonnen sind. Hiervon werden 50 *cm*³ mit 50 *cm*³ Wasser verdünnt und polarisiert. Für die Inversion werden 50 *cm*³ der geklärten Lösung mit 5 *cm*³ Salzsäure vom spez. Gew. 1·19 versetzt, auf 67—70° erwärmt und 5 Minuten bei dieser Temperatur gehalten. Darauf wird sofort abgekühlt, neutralisiert und auf 100 *cm*³ aufgefüllt. Die Lösungen vor und nach der Inversion werden im 200 *mm*-Rohr polarisiert. Die Differenz der Drehung multipliziert mit 5·725 ergibt den Gehalt an Rohrzucker.

Aus der Polarisation nach der Inversion ergibt sich der Gehalt an Stärkesirup nach der Formel von *Hasse* (S. 324).

11. Bestimmung des Gehaltes an Stärkesirup.

Nach *Fiehe*[1]) prüft man Fruchtsäfte zunächst qualitativ in folgender Weise auf Stärkesirup: 10 *g* Saft werden mit 10 *g* Wasser verdünnt, nach Zugabe von 5 Tropfen 10%iger Ammoniumoxalatlösung wird aufgekocht und nach nochmaligem Aufkochen mit Tierkohle wird filtriert. 2 *cm*³ des klaren Filtrates werden mit 4 Tropfen Salzsäure versetzt (S = 1·19) und mit 20 *cm*³ 94%igen Alkohols vermischt. Ist Stärkesirup vorhanden, so macht sich dies durch Abscheidung des Dextrins bemerkbar.

Die quantitative Bestimmung erfolgt nach *Juckenack* und *Pasternack*[2]), welche folgendermaßen verfahren:

10 *cm*³ Saft werden mit etwa 70 *cm*³ Wasser verdünnt, mit einer kleinen Messerspitze gereinigter Tierkohle versetzt und nach Zugabe von 5 *cm*³ konzentrierter Salzsäure (spez. Gew. 1·19) 5 Minuten lang auf 68 bis 70° erwärmt, dann sofort abgekühlt, auf 100 *cm*³ aufgefüllt, filtriert und im 200 *mm*-Rohr polarisiert. Die beobachtete Drehung ist auf spezifische Drehung (= 100 *g* Extrakt im 100 *mm*-Rohr) umzurechnen; aus dieser ist der Gehalt an Stärkesirup nach der folgenden Tabelle zu berechnen.

Es sei das spezifische Gewicht des alkoholfreien Saftes = 1·3260 entsprechend 65·99 Gew.-% Zucker = 87·43 *g* Zucker in 100 *cm*³. Die Polarisation des Saftes (10 *cm*³ Saft: 100 *cm*³ im 200 *mm*-Rohr) betrage = = + 4·3°, also 10 *cm*³ Saft : 100 *cm*³ im 100 *mm*-Rohr = + 2·15°, mithin der reine Saft im 100 *mm*-Rohr = + 21·5° und die spezifische Drehung des Extraktes = + 24·59° (d. h. 100 *g* Extrakt : 100 *cm*³ im 100 *mm*-Rohr).

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, entspricht einer Drehung von + 24·59° etwa 36% wasserhaltiger Stärkesirup, d. h. von 100 *g* des Extraktes (Zucker) sind etwa 36 *g* Stärkesirup, von 65·99 *g* des Extraktes (Zucker) also etwa 24 *g* Stärkesirup oder in 100 *g* Fruchtsaft sind gegen 24 *g* Stärkesirup enthalten.

Juckenack und *Pasternack* fanden, daß das spezifische Drehungsvermögen der invertierten Trockensubstanz, wenn kein Stärkesirup vorhanden ist, zwischen —18 und —21·5° schwankt. Die spezifische Drehung der Stärkesiruptrockensubstanz beträgt dagegen + 134·1. Das ist eine Differenz von 155° und je 1% Stärkesirupzusatz macht sich daher durch Verminderung der Minusdrehung um 1·5° bemerkbar.

Aus der nachstehenden Tabelle kann man ohne weiteres den Gehalt an Stärkesirup entnehmen.

---

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahr. u. Genußm. S. 31 (1909).

[2]) Ebendort. S. 18 (1904).

Rohrzucker	Wasserfreier Stärkesirup	Entsprechend Stärkesirup mit 18% Wasser	Spez. Drehung des Extraktes nach der Inversion	Rohrzucker	Wasserfreier Stärkesirup	Entsprechend Stärkesirup mit 18% Wasser	Spez. Drehung des Extraktes nach der Inversion
%	%	%	°	%	%	%	°
100	0	0	— 21·50	48	52	63·44	+ 59·41
98	2	2·44	— 18·39	46	54	65·88	+ 62·52
96	4	4·88	— 15·28	44	56	68·32	+ 65·64
94	6	7·32	— 12·16	42	58	70·76	+ 68·75
92	8	9·76	— 9·05	40	60	73·20	+ 71·86
90	10	12·20	— 5·94	38	62	75·64	+ 74·97
88	12	14·64	— 2·83	36	64	78·08	+ 78·08
86	14	17·08	+ 0·28	34	66	80·52	+ 81·20
84	16	19·52	+ 3·40	32	68	82·96	+ 84·31
82	18	21·96	+ 6·51	30	70	85·40	+ 87·42
80	20	24·40	+ 9·62	28	72	87·84	+ 90·53
78	22	26·84	+ 12·73	26	74	90·28	+ 93·64
76	24	29·28	+ 15·84	24	76	92·72	+ 96·76
74	26	31·72	+ 18·96	22	78	95·16	+ 99·87
72	28	34·16	+ 22·07	20	80	97·60	+ 102·98
70	30	36·60	+ 25·18	18	82	100·04	+ 106·09
68	32	39·04	+ 28·29	16	84	102·48	+ 109·20
66	34	41·48	+ 31·40	14	86	104·92	+ 112·32
64	36	43·92	+ 34·52	12	88	107·36	+ 115·43
62	38	46·36	+ 37·63	10	90	109·80	+ 118·54
60	40	48·80	+ 40·74	8	92	112·24	+ 121·65
58	42	51·24	+ 43·85	6	94	114·68	+ 124·76
56	44	53·68	+ 46·96	4	96	117·12	+ 127·88
54	46	56·12	+ 50·08	2	98	119·56	+ 130·99
52	48	58·56	+ 53·19	0	100	122·00	+ 134·10
50	50	61·00	+ 56·30				

P. Hasse[1] hat einfachere Formeln für die ungefähre Bestimmung des Stärkesirups aus der Polarisation der invertierten Lösung aufgestellt, und zwar polarisiert er die invertierte Lösung 10 *g* : 100 *cm*³ im 200 *mm*-Rohr. Für Fruchtsirup lautet die Formel 10 + 4mal Polarisation oder 0·17 E + 3·9mal Polarisation (E ist Extraktgehalt in Prozenten); für Liköre und Limonaden $^1/_6$ E + 4mal Polarisation.

12. Künstliche Farbstoffe. Diese werden wie im Wein (siehe dort) nachgewiesen.

13. Nachweis von Kirschsaft.

[1]) Pharm. Ztg. S. 815 (1906).

Häufig wird Kirschsaft zum Auffärben anderer Säfte benutzt. Diesen kann man nach dem Verfahren von *Langkopf*[1] nachweisen, indem man in 2 kleine Kölbchen etwas Kupfersulfatlösung (1 : 10.000) und etwas Alkohol bringt. Darauf fängt man in einem der Kölbchen die ersten 2—3 *cm*³ des Destillates auf, das man aus 50 *cm*³ des zu prüfenden, verdünnten Sirups gewonnen hat. Man fügt dann zu dem Inhalt beider Kölbchen 1—2 Tropfen einer frisch bereiteten alkoholischen Guajakharztinktur hinzu. Bei Gegenwart von Kirschsaft färbt sich das Destillat schön blau (Blausäure). Man kann auf diese Weise noch 3% Kirschsaft nachweisen.

14. Nachweis von Konservierungsmitteln.

Salizylsäure und Benzoësäure werden wie unter Wein angegeben (siehe dort) nachgewiesen. Quantitativ werden beide nach *Brode* und *Lange*[2]) bestimmt (siehe unter Bier).

Flußsäure wird bestimmt, wie unter Fleisch (S. 163) angegeben worden ist.

Schweflige Säure wird wie im Wein (siehe dort) bestimmt.

Formaldehyd wird wie im Fleisch (S. 160) bestimmt.

Ameisensäure wird wie im Essig (S. 243) bestimmt.

15. Bestimmung von Weinsäure. Sie wird ausgeführt, wie unter Wein (siehe dort) angegeben ist.

16. Bestimmung von Zitronensäure. Siehe ebenfalls unter Wein.

17. Bestimmung der Äpfelsäure. Siehe ebenfalls unter Wein.

18. Nachweis künstlicher Fruchtäther. Außer dem Geruch kann das Verfahren von *Kreis*[3]) entsprechende Anwendung finden: man erhitzt den Saft mit Natronlauge ½ Stunde am Rückflußkühler und destilliert dann ab. Das Destillat wird mit Äther ausgeschüttelt und der Äther verdunstet. Der Rückstand wird mit 30%igem Alkohol aufgenommen. In einem Stöpselzylinder bringt man zu 5 *cm*³ dieser Mischung 0·5 *cm*³ einer frisch bereiteten 1%igen alkoholischen Lösung von Salizylaldehyd und 10 *cm*³ konzentrierter Schwefelsäure, schüttelt um und läßt erkalten. Die Stärke der Rotfärbung läßt auf Isobutylalkohol, Isoamylalkohol und Propylalkohol schließen, deren färbende Kraft sich wie 9 : 3 : 1 verhält.

Speziell auf Amylalkohol prüft man, indem man den Verdunstungsrückstand der Ätherausschüttlung des Destillates mit verdünnter Schwefelsäure und soviel Kaliumpermanganat versetzt, daß die Farbe einen Tag bestehen bleibt. Man verkorkt die Flasche, und es entstehen nun Valerian-

---

[1]) Pharm. Zentralh. S. 421 (1900).

[2]) Experimentelle u. kritische Beiträge usw. (S. 183). Herausgegeben vom kaiserl. Gesundheitsamt. Berlin. Jul. Springer. 1911.

[3]) Chem.-Zeitg. S. 999 (1907).

aldehyd, Baldriansäure-Amylester und zuletzt Baldriansäure, die am Geruch zu erkennen sind.

19. Metallgifte.

Man verfährt nach dem allgemeinen Analysengang. Zum Nachweis von Arsen und Zinn bedient man sich einer besonderen Methode. (Siehe S. 318.)

2. Marmeladen, Gelees, Obstmuse u. dgl.

1. Löslicher und unlöslicher Teil des Extraktes.

Nach *Juckenack* und *Prause*[1]) werden 25 *g* der gut durchgemischten Marmelade in einem reichlich großen Becherglase abgewogen, mit 150 cm^3 Wasser übergossen und unter häufigem Umrühren 1 Stunde lang auf dem Wasserbade erwärmt. Diese Masse wird dann durch Watte, die vorher zusammen mit einer flachen Nickelschale getrocknet und gewogen worden war, in einen 250 cm^3-Kolben filtriert und der Rückstand mit heißem Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaktion der ablaufenden Flüssigkeit erschöpft. Im allgemeinen wird die Flüssigkeit nicht über 250 cm^3 betragen, sonst müssen die letzten Auszüge auf dem Wasserbade eingeengt werden. Die auf der Watte zurückgebliebenen unlöslichen Bestandteile werden getrocknet und gewogen.

Von dem Auszuge wird zunächst das spezifische Gewicht bestimmt und daraus nach der Zuckertabelle von *K. Windisch* (S. 268) der Extraktgehalt in 100 cm^3 des Auszuges, entsprechend 10 *g* Marmelade, ermittelt.

2. Wassergehalt.

Dieser ergibt sich, wenn man den Gehalt an unlöslichem und löslichem Extrakt von 100 abzieht.

3. Bestimmung der löslichen Mineralstoffe.

100 cm^3 des Auszuges werden eingedampft und verascht. In der Asche wird die Alkalität und eventuell auch die Phosphorsäure bestimmt. (Siehe S. 153.)

4. Spezifisches Gewicht und Polarisation der invertierten Lösung und Ermittlung des Extraktgehaltes der invertierten Marmelade (nach *Juckenack*).

Man nimmt 80 cm^3 der Urlösung (1:10) und versetzt sie in einem 100 cm^3-Kölbchen mit gereinigter Tierkohle, erwärmt nach Zugabe von 5 cm^3 konzentrierter Salzsäure (1·19) 5 Minuten auf 67—70°, kühlt rasch ab, neutralisiert und füllt auf 100 cm^3 auf. Die Polarisation erfolgt im 200 *mm*-Rohr bei 20°. Das spezifische Gewicht wird bei 15° im Pyknometer bestimmt. Gleichzeitig ermittelt man das spezifische Gewicht von 5 cm^3 Salzsäure (1·19) in 100 Wasser und zieht dies von dem vorher gefundenen ab. Zur Differenz wird 1 addiert und aus der Zuckertabelle nach

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. S. 31 (1904).

Windisch (S. 268) das Extrakt bestimmt. Das gefundene Extrakt mal 100 durch 8 ist gleich dem Extraktgehalt der invertierten Marmelade.

5. Bestimmung des Stärkesirups.

Die Drehung der invertierten Lösung wird durch Division mit 2 auf das 100 *mm*-Rohr umgerechnet und durch den Extraktgehalt der Lösung dividiert. Multipliziert man dann mit 100, so erhält man die spezifische Drehung des invertierten Extraktes. Aus der Tabelle (S. 324) entnimmt man den zugehörigen Gehalt an Stärkesirup. Die Formel von *P. Hasse* lautet für Marmeladen: $^1/_6$ Extrakt + 4mal Polarisation. Für Pflaumenmus: $4^1/_2$mal Polarisation.

6. Bestimmung des Gesamtzuckers.

Man bestimmt ihn als Invertzucker in der neutralisierten Lösung von 4 in 25 *cm*³, nachdem man sie soweit verdünnt hat, daß nicht mehr als 1% Zucker darin enthalten ist (S. 127).

7. Gesamtsäure.

25 *g* Substanz werden in 100 *cm*³ warmen Wassers gut verteilt, einmal aufgekocht und mit $^1/_4$-Normallauge titriert. Als Indikator dient Azolithminpapier.

8. Nachweis von Gelatine.

Die Gegenwart von Gelatine gibt sich durch einen höheren Stickstoffgehalt zu erkennen. Zur Prüfung fällt man die konzentrierte Lösung der Substanz 5—10 *g* mit der 10fachen Menge absoluten Alkohols und bestimmt den Stickstoffgehalt des getrockneten Niederschlages. Bei Gegenwart von Gelatine ist dieser Niederschlag erheblich reicher an Stickstoff als bei reinen Produkten. (Bis zu 45% Stickstoffsubstanz, bei reiner Ware 13—28%.)

Ein anderes Verfahren gibt *Beckmann* an (Forschungsberichte über Lebensmittel, 1896, S. 324).

9. Nachweis von Agar-Agar.

Agar-Agar wird aus Meeresalgen gewonnen und ist reichlich mit Diatomeen durchsetzt. Zum Nachweis dieses Gallertstoffes kocht man nach *G. Marpmann*[1]) die Gelees mit 5%iger Schwefelsäure, fügt einige Kristalle Kaliumpermanganat hinzu und läßt absitzen. Bei Gegenwart von Agar-Agar sind in dem Bodensatze zahlreiche Arten von Diatomeen enthalten, die man mikroskopisch nachweisen kann.

Die übrigen Bestimmungen werden ebenso wie bei Fruchtsäften ausgeführt.

3. Limonaden und alkoholfreie Getränke.

Ihre Untersuchung erfolgt im wesentlichen nach den gleichen Verfahren, welche für Fruchtsäfte angegeben worden sind.

Weinsäure und Zitronensäure werden wie im Wein bestimmt.

---

[1]) Zeitschr. f. angew. Mikrosk. H. 2. S. 9 (1896).

Von besonderer Wichtigkeit ist der Nachweis von künstlichen Schaummitteln in Brauselimonaden: in der Hauptsache werden Saponine verwendet. Sie gehören einer im Pflanzenreiche weit verbreiteten Gruppe der Glykoside an, die zum größten Teil wegen ihrer hämolytischen Eigenschaften giftig sind, wenn sie in die Blutbahn gelangen. Sie kommen in verschiedenen Pflanzen vor und werden aus ihnen dargestellt: die wichtigsten sind Polygala Senega, Saponaria officinalis, Quillaja Saponaria, Agrostemma Githago u. a. Die Saponine sind kratzend schmeckende Stoffe, welche zum Niesen reizen und in wässerigen Lösungen beim Schütteln Schaum erzeugen. Man hält deshalb ihre Lösungen, wegen der Ähnlichkeit mit Eiweißkörpern, für kolloidale. In verdünntem Alkohol sind sie löslich, in absolutem Alkohol, Äther und Petroläther dagegen unlöslich. Durch verdünnte Säuren werden sie hydrolysiert und zerfallen in Wasser unlösliche Sapogenine und Zuckerarten.

Zur Erkennung dienen folgende Farbenreaktionen: Konzentrierte Schwefelsäure löst die Saponine mit gelber bis rotgelber Farbe, welche langsam in Rot, dann Rotviolett übergeht und schließlich mißfarbig wird, mit einem Stich ins Violette. Nach längerer Zeit scheiden sich gewöhnlich dunkelgrüne oder violette Flöckchen aus, während die Säure farblos bleibt. Außerdem geben sie, wie alle Glykoside, die Gallenreaktion nach *Brunner-Pettenkofer*. Diese wird so ausgeführt, daß man die möglichst reine Substanz mit einem Körnchen gereinigter Ochsengalle in Wasser löst und in einem Reagenzglase mit einem gleichen Volumen konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. An der Berührungsstelle entsteht ein blutroter Ring, beim Mischen färbt sich die ganze Flüssigkeit rot. Es ist aber zu beachten, daß auch die Zucker diese Reaktionen geben, deshalb ist zunächst mit *Fehling*scher Lösung in der Kälte auf reduzierende Zuckerarten zu prüfen. Um auch vor nichtreduzierenden Zuckern sicher zu sein, muß das Saponin sorgfältig gereinigt werden. Zur Reinigung löst man den fraglichen Körper in Wasser und versetzt mit neutralem Bleiazetat, wobei ein größerer Überschuß zu vermeiden ist. Der Niederschlag wird gesammelt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Gewöhnlich enthält das Filtrat vom Bleiazetatniederschlag das Saponin. Dieses wird mit Bleiessig versetzt und sowohl Niederschlag als auch Filtrat werden mit Schwefelwasserstoff entbleit.

In Limonaden weist man das Saponin nach *K. Brunner*[1]) folgendermaßen nach:

500 *cm*³ werden von Kohlensäure befreit, mit Magnesiumkarbonat neutralisiert, zum dünnen Sirup verdampft und mit dem doppelten Volumen Alkohol von 96 % versetzt. Nach dem Absitzen wird filtriert, mit Wasser verdünnt und auf dem Wasserbade entgeistet. Die Lösung wird mit soviel flüssiger Karbolsäure durchgeschüttelt, daß etwa 5 *cm*³ ungelöst

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. S. 1197 (1902) und *J. Gadamer*, Lehrb. d. chem. Toxikolgie. Göttingen, Vandenhoeck & Ruprecht, 1909.

bleiben und darauf mit Ammoniumsulfat bis zur Sättigung versetzt. Die Karbolsäure wird von der Flüssigkeit getrennt, filtriert und in einer Mischung von 2 Teilen Äther und 1 Teil Petroläther gelöst. Diese Lösung enthält das Saponin, welches mit Wasser ausgeschüttelt wird. Der Verdunstungsrückstand der wässerigen Ausschüttelung wird mit absolutem Alkohol und mit kaltem Azeton abgespült. Zur weiteren Reinigung läßt man den Rückstand noch zweimal je einen Tag mit 10 cm^3 Azeton stehen und entfernt das Gelöste.

Mit dem so gereinigten Saponin werden die vorher angegebenen Reaktionen ausgeführt, außerdem ist ein hämolytischer Versuch anzustellen, indem man gut gewaschene Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung aufschwemmt und mit der fraglichen Substanz versetzt. Lösen sich die roten Blutkörperchen auf, so besitzt das isolierte Saponin hämolytische Eigenschaften. Stehen nur sehr geringe Mengen von Saponin zur Verfügung, so kann die Reaktion auch unter dem Mikroskop angestellt werden.

Hat sich die Substanz als hämolytisch erwiesen, so ist nach *Ranson* noch folgende Gegenprobe auszuführen: Die Auflösung des Saponins in Kochsalzlösung wird mit so viel Cholesterin (gelöst in Äther) durchgeschüttelt, daß auf 20 Teile Saponin etwa 1 Teil Cholesterin kommt und dann einige Stunden auf 37° erwärmt. Die ätherfreie Lösung darf nicht mehr hämolytisch wirken (Unterschied von anderen Hämolysinen).

Gemüse- und Obstdauerwaren.

Unter Gemüse- und Obstdauerwaren versteht man die nach besonderen Verfahren für längere Zeit haltbar gemachten Gemüse und Früchte. Die verschiedenen Behandlungen sind folgende:

1. Eintrocknen und Pressen (Dörrgemüse, Dörrobst, Trockenpilze etc.).

2. Sterilisieren nach *Apperts* Verfahren. Sie erfolgt bei geeigneten, für jedes Gemüse und jede Frucht verschiedenen Temperaturen, und je nach der Art der Waren entweder für sich oder nach dem Einlegen in Wasser, Salzlösungen, Zuckerlösungen oder Öl.

3. Einlegen, Einmachen mit Salz oder Essig (Weinessig) unter Zusatz von scharfem Gewürz (spanischem Pfeffer, Ingwer). Hierher gehören z. B. Essig- und Salzgurken, Essigkirschen. Ferner gehören hierher diejenigen Gemüse, welche mit Kochsalz eingestampft werden und eine Gärung (Milchsäuregärung) durchmachen, wie Sauergemüse, Sauerkraut etc.

4. Für die Früchte kommt noch als besonderes Verfahren das Überziehen oder Tränken mit Zucker, das sogenannte Kandieren, hinzu. Kandierte Früchte sind auch Zitronat und Orangeat.

Die Zusammensetzung dieser Dauerwaren entspricht im allgemeinen der der entsprechenden Gemüse und Früchte im natürlichen Zustande; bei Anwendung von Einmachflüssigkeiten geht ein Teil der löslichen Stoffe in die Flüssigkeit über und umgekehrt.

1. Prüfung auf Metallgifte.

Zum Nachweis von Blei in der Verzinnung von Konservenbüchsen dient die Methode von *Utz*[1]):

0·5 *g* des Lotes oder der Verzinnung erhitzt man in einem kleinen Kölbchen mit 7—8 *cm*³ konzentrierter Schwefelsäure auf dem Sandbade; löst sich alles auf, so ist die Probe bleifrei. Entsteht ein Niederschlag von schwefelsaurem Blei, so setzt man 20 *cm*³ einer 5⁰/₀igen Ammoniumoxalatlösung, etwas Wasser und das gleiche Volumen Alkohol hinzu. Das abgeschiedene Bleisulfat wird dann in bekannter Weise bestimmt.

Kupfer wird in der Asche nachgewiesen, indem man etwa 50 *g* in einer Porzellanschale trocknet und in einem Porzellantiegel verascht. Die Asche wird mit Salpetersäure ausgezogen und das Gelöste zur Trockene verdampft. Der Rückstand wird mit Wasser aufgenommen, mit Salzsäure versetzt und mit Schwefelwasserstoff auf Kupfer geprüft.

Blei, Zinn, Zink und Nickel werden in bekannter Weise nachgewiesen. Die Zerstörung der organischen Substanz wird am besten nach dem unter Mehl S. 222 angegebenen Verfahren ausgeführt.

2. Nachweis von Konservierungsmitteln.

Der Nachweis erfolgt wie unter Fleisch S. 159 angegeben worden ist.

3. Nachweis von Teerfarbstoffen. Er erfolgt wie unter Wein angegeben worden ist, eventuell kann auch das Kapitel Fleisch (S. 164) herangezogen werden.

4. Nachweis von Süßmitteln.

a) Stärkesirup wird nach den unter Fruchtsaft angegebenen Verfahren (S. 323) nachgewiesen oder nach S. 308.

b) Künstliche Süßstoffe (siehe dort).

c) Rohrzucker: Die Bestimmung des Rohrzuckers kann nach folgendem amtlichen Verfahren erfolgen[2]):

Verzuckerte Süd- und einheimische Früchte glasiert oder kandiert; in Zuckerauflösungen eingemachte Früchte (Schachtelmus, Pasten, Kompott, Gallerte).

Sind die Waren stärkezuckerfrei, so ist die Bestimmung des Zuckers nach dem unter 1 in Anlage B (S. 256) gegebenen Verfahren auszuführen. Sind sie unter Verwendung von Stärkezucker eingemacht, so ist das weiter unten beschriebene Verfahren anzuwenden. Die Vorbereitung der Proben zur Untersuchung hat in folgender Weise zu geschehen:

Die Früchte werden gewogen und in einen großen Trichter, in welchem sich ein Porzellansieb befindet, geschüttet. Man läßt die Zuckerlösung möglichst gut abtropfen und entfernt darauf die Steine, falls sie bei Steinobst vor dem Einmachen nicht entfernt worden sind. Sie werden

¹) Zeitschr. f. analyt. Chemie. S. 442 (1908).

²) Nach Ausführungsbestimmungen zum Zuckersteuergesetz vom 27. Mai 1896 und 6. Januar 1903.

möglichst vom Fruchtfleisch befreit, gewogen und ihr Gewicht von dem Gesamtgewicht abgezogen. Die etwa an den Händen haften gebliebenen Teile des Fruchtfleisches und der Zuckerlösung werden mit einem Messer entfernt und mit den Früchten in eine gut verzinnte Fleischhackmaschine oder eine andere geeignete Vorrichtung gebracht. Um einen gleichmäßigen Brei zu erzielen, läßt man die Masse mehrere Male durch die Maschine gehen, fügt dann die Zuckerlösung hinzu und schickt das Ganze noch 4—5mal durch die Maschine. Beim Arbeiten nach diesem Verfahren kann nicht vermieden werden, daß kleine Mengen des Breies an den inneren Wandungen der Gefäße haften bleiben; doch sind diese im Vergleiche zum Gesamtgewichte so gering, daß sie, ohne das Ergebnis der Untersuchung wesentlich zu beeinträchtigen, vernachlässigt werden können. Will man jedoch auf diese Menge nicht verzichten, so spült man die Maschine mit etwa 100 cm^3 lauwarmem Wasser aus, fängt die Flüssigkeit für sich auf, füllt sie zu 100 cm^3 auf und bestimmt darin den Rohrzuckergehalt auf dieselbe Weise wie in der Hauptmenge.

200 *g* des Breies werden auf einer empfindlichen Tarierwage abgewogen und mit destilliertem Wasser auf 1 Liter verdünnt. Man läßt die Mischung unter häufigem Umschütteln 24 Stunden an einem kühlen Orte stehen und filtriert nach dem letzten Absetzen 200 cm^3 durch ein großes Faltenfilter.

Handelt es sich um glasierte oder kandierte Früchte, so werden diese unter sinngemäßer Abänderung des Verfahrens in gleicher Weise für die Untersuchung vorbereitet.

Zur Ausführung der Zuckerbestimmung werden bei stärkezuckerfreien Früchten 50 cm^3 des nach obiger Anleitung erhaltenen Filtrates nach dem unter 1 der Anlage B (S. 256) vorgeschriebenen Verfahren invertiert und nach der Abstumpfung der Säuren mit einer Natriumkarbonatlösung, welche 10 *g* trockenes Natriumkarbonat im Liter enthält, mit Wasser zu 1 Liter aufgefüllt. 25 cm^3 dieser verdünnten Lösung dienen nach Zusatz von 25 cm^3 Wasser und 50 cm^3 *Fehling*scher Lösung zur Zuckerbestimmung.

Bei stärkezuckerhaltigen Früchten werden

a) zur Bestimmung des reduzierenden Zuckers (Invertzucker + Stärkezucker) 100 cm^3 des Filtrats auf 500 cm^3 verdünnt; für gewöhnlich reicht dieser Grad der Verdünnung aus. Will man sich darüber Sicherheit verschaffen, so kocht man als Vorprobe 2 cm^3 *Fehling*sche Lösung 2 Minuten lang mit 1 cm^3 des verdünnten Filtrats; wird dabei nicht alles Kupfer reduziert, so ist die Verdünnung richtig. Im anderen Falle muß noch weiter, etwa mit gleichem Wasser verdünnt werden. Diese Verdünnung wird stets genügen. Zur Bestimmung des Zuckers fügt man zu 25 cm^3 dieser Lösung 25 m^3 Wasser und 50 cm^3 *Fehling*sche Lösung hinzu und verfährt weiter nach 1 in Anlage B (S. 256).

Die Bestimmung des Gesamtzuckers erfolgt in gleicher Weise, wie in stärkezuckerfreien Früchten.

Der Gehalt an Rohrzucker ergibt sich aus dem Unterschiede vor und nach der Inversion.

Ist bei der Zerkleinerung der Früchte die an den inneren Gefäßwandungen haften gebliebene Menge besonders gesammelt und ihr Zuckergehalt ermittelt worden, so ist dieses Ergebnis bei der Berechnung entsprechend zu berücksichtigen.

Zur Untersuchung von Schachtelmus, Pasten, Kompott, Gallerte u. dgl. werden 200 *g* der Ware in einer Reibschale mit Wasser zu einem gleichmäßigen Brei zerrieben und mit Wasser zu 1 Liter aufgefüllt. Die Untersuchung erfolgt weiter nach dem für stärkezuckerfreie Früchte angegebenen Verfahren.

Honig.

Honig[1]) ist der süße Stoff, den die Bienen erzeugen, indem sie Nektariensäfte oder auch andere Säfte lebender Pflanzenteile aufnehmen, in ihrem Körper verändern, in den Waben aufspeichern und dort reifen lassen.

Honig ist ursprünglich klar und dickflüssig, erst beim Aufbewahren erstarrt er zu einer kristallinischen Masse; die Kristalle bestehen vorwiegend aus Glykose, der flüssige Anteil aus Fruktose. Honig besteht daher im wesentlichen aus einer konzentrierten Invertzuckerlösung, in der aber die Lävulose überwiegt. Außerdem sind in jedem Honig Rohrzucker, Dextrin und geringe Mengen von gummiähnlichen Körpern, stickstoffhaltigen Verbindungen, Wachs, Farbstoffen, Riechstoffen, organischen Säuren, Mineralstoffen und pflanzlichen Gewebselementen, namentlich Pollenkörner, enthalten.

Die mittlere Zusammensetzung des Honigs ist folgende:

Invertzucker	70—80%
davon Dextrose	34·7%
Lävulose	39·2%
Rohrzucker . . . bis zu	10%
Dextrine	10%
Mineralstoffe	0·1—0·8%
Nichtzucker	5% und mehr
(davon Ameisensäure 0·2%)	
Stickstoffhaltige Bestandteile	0·3% und mehr
Wasser im Durchschnitt	20%

Da Honig verhältnismäßig teuer ist, so sucht man ihn mit billigeren Zutaten, wie Rohrzucker, Melasse, Invertzucker, Kunsthonig, Stärkezucker,

[1]) Nach „Vereinbarungen" und den „Entwürfen" des Kaiserl. Gesundheitsamtes. Jul. Springer. 1912.

Stärkesirup und Traubenzucker zu versetzen. Die Untersuchungen gehen deshalb darauf aus, einmal die Bestandteile des Honigs festzustellen, dann aber auch unerlaubte Zutaten nachzuweisen.

Vor der Untersuchung ist der Honig stets zu erwärmen, um die Kristalle zu lösen und gut durchzumischen.

1. Spezifisches Gewicht.

30 *g* Honig werden in 60 *g* Wasser gelöst; die Lösung wird filtriert und ihr spezifisches Gewicht im Pyknometer bei 15° bestimmt.

2. Bestimmung des Wassers und der Trockensubstanz.

25 *g* Honig und 25 *g* ausgeglühter Quarzsand werden in einer flachen Platinschale abgewogen, mit 10 cm^3 Wasser vermischt und im Wasserbade eingetrocknet. Das vollständige Trocknen geschieht am besten im Vakuum bei höchstens 70°.

Oder man ermittelt das spezifische Gewicht einer 20%igen, unfiltrierten Honiglösung bei 15° C.

Aus der gefundenen Dichte d der Honiglösung (bezogen auf Wasser von 4° C) wird der Prozentgehalt an Trockenrückstand nach folgender Formel ermittelt:

$$t = \frac{d - 0{\cdot}99915}{0{\cdot}000771}.$$

Der Wassergehalt ergibt sich, indem man den Extraktgehalt von 100 abzieht.

3. Mineralbestandteile.

Sie werden nach den allgemeinen Methoden S. 152 ermittelt, und zwar verwendet man 10 *g* Honig.

4. Säuregehalt.

10 *g* Honig werden in 100 cm^3 Wasser gelöst und mit $^1/_{10}$-Normalalkali unter Benutzung von Phenolphtaleïn oder Lackmuspapier als Indikator titriert. Die Ergebnisse werden gewöhnlich auf Ameisensäure berechnet; sie werden aber besser durch Kubikzentimeter N-Lauge für 100 *g* Honig ausgedrückt.

5. Stickstoffverbindungen.

Diese werden nach *Kjeldahl* in 5—10 *g* Honig ermittelt (S. 104).

6. Zuckerbestimmung.

Man stellt nach *P. Lehmann* und *Stadlinger*[1]) zunächst eine Stammlösung her, indem man 40 *g* Honig in 120 *g* Wasser löst.

a) Optisches Verfahren: 37·5 *g* der Stammlösung werden zur Entfärbung mit aufgeschwemmtem Tonerdehydrat versetzt und auf 50 cm^3 aufgefüllt. Nach dem Filtrieren läßt man die Lösung 24 Stunden stehen und polarisiert im 200 *mm*-Rohr bei 20°. Um die Bestimmung sofort vornehmen zu können, kann man auch einige Tropfen Ammoniak zusetzen.

---

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. **13**. S. 415 (1907) und *Witte*, Honiguntersuchungen. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. S. 625 (1909).

wodurch die Birotation aufgehoben wird. Die Polarisation entspricht einer 25%igen Lösung. Reine Honige sind in der Regel schwach linksdrehend. doch gibt es auch rechtsdrehende Honige, z. B. Koniferenhonige, die viel Dextrin enthalten, und Honigtauhonige, welche viel Saccharose enthalten.

Die durch Dextrine verursachte Rechtsdrehung verschwindet bei der Inversion nicht, wohl aber die durch Saccharose bedingte, wodurch beide unterschieden werden können.

Invertiert wird in der Weise, daß man 37·5 *g* der ursprünglichen Honiglösung mit 5 cm^3 Salzsäure (1·19) versetzt, diese Mischung 5 Minuten lang bei 67—70° C erwärmt, dann sofort abkühlt, mit festem kohlensauren Natrium neutralisiert, auf 50 cm^3 auffüllt; dann wird wie vorher polarisiert.

Durch Multiplizieren der Differenz der Polarisation vor und nach der Inversion mit 2·2896 erhält man den Saccharosegehalt in Prozenten.

Die Berechnung beruht auf folgender Überlegung.

Angenommen es läge eine 10%ige Honiglösung vor (10 *g* Honig zu 100 cm^3 Flüssigkeit). Dann sind darin folgende aktive Substanzen enthalten:

x *g* eines bei der Inversion unveränderlichen Gemisches aus „Nichtzucker" (Dextrine usw.), Fruktose und Glykose; von dieser Mischung möge 1 *g* mit Wasser zu 100 cm^3 Flüssigkeit gelöst im 200 *mm*-Rohr u° drehen: y *g* Saccharose, von der 1 *g* mit Wasser zu 100 cm^3 Flüssigkeit gelöst im 200 *mm*-Rohr + 1·33° dreht.

Bezeichnen wir die Drehung einer Lösung von 10 *g* Honig zu 100 cm^3 Flüssigkeit, im 200 *mm*-Rohr

$$\begin{aligned} &\text{vor der Inversion} = D \\ &\text{nach} \quad „ \quad\quad „ \quad = D_i, \end{aligned}$$

so lassen sich beide Drehungsverhältnisse, die in 10%igen Honiglösungen vor und nach der Inversion herrschen, durch folgende Gleichungen ausdrücken:

$$\begin{aligned} u\,x + 1{\cdot}33\,y &= D \\ u\,x - 0{\cdot}396\,.\,1{\cdot}0523\,y &= D_i, \\ \hline 1{\cdot}33\,y + 0{\cdot}396\,.\,1{\cdot}0523\,y &= D - D_i \\ y\,(1{\cdot}33 + 0{\cdot}396\,.\,1{\cdot}0523) &= D - D_i. \end{aligned}$$

Bezeichnen wir $D - D_i$, d. h. die Drehungsdifferenz, die sich vor und nach Inversion 10%iger Honiglösungen im 200 *mm*-Rohr ergibt, mit Δ, so wird

$$y = \Delta \frac{1}{1{\cdot}33 + 0{\cdot}396\,.\,1{\cdot}0523}$$

$$\text{oder } y = \Delta\,.\,0{\cdot}5725.$$

$$\text{Für 100 } g \text{ Honig ist } y = \Delta\,.\,5{\cdot}725.$$

Ähnlich berechnet sich eine allgemeine Formel, welche von der spezifischen Drehung des Honigs ausgeht, mit $y = (\alpha)\,\Delta\,.\,1{\cdot}1448$. Da die Drehung an einer 25%igen Honiglösung im 200 *mm*-Rohr ausgeführt worden ist, so ist in diesem Falle der Faktor zu verdoppeln, entsprechend 2·2896.

b) Bestimmung des Invertzuckers.

30 *g* der Stammlösung werden mit Tonerdehydrat versetzt und mit Wasser auf 1000 cm^3 verdünnt. Nach dem Filtrieren werden 25 cm^3 zur Zuckerbestimmung nach *Meißl* (Allgemeine Bestimmungsmethoden, S. 127) verwendet. Die gefundene Zuckermenge wird mit 400 multipliziert, um den Zuckergehalt in Prozenten zu erhalten.

c) Bestimmung des Rohrzuckers. Der Rohrzucker wird gewöhnlich, wie unter *a)* angegeben, durch Polarisation bestimmt. Man verfährt aber genauer, indem man die Honiglösung von *b)*, wie bei der Polarisation beschrieben worden ist, invertiert, auf 1000 auffüllt und in 25 cm^3 nach *Meissl* (S. 127) den Zucker gewichtsanalytisch bestimmt. Die Differenz der Zuckerbestimmung vor und nach der Inversion ist durch Multiplizieren mit 0·95 auf Saccharose umzurechnen.

d) Nachweis des Stärkesirups. Außer der Polarisation (a), welche nach der Inversion des Honigs noch starke Rechtsdrehung ergeben muß, gibt namentlich die Reaktion nach *Fiehe* [1]) Auskunft darüber, ob Stärkesirup vorhanden ist oder nicht. Zur Prüfung nach *Fiehe* wird eine Honiglösung 1 + 2 (15 *g*) mit Gerbsäure versetzt, wodurch die Eiweißstoffe, die bei der Reaktion störend wirken, ausgefällt werden. Nach 12 Stunden wird filtriert, und zu 2 cm^3 des klaren Filtrates werden 4 Tropfen konzentrierte Salzsäure vom spez. Gew. 1·19 zugefügt. Auf Zusatz der 10fachen Menge absoluten Alkohols bleiben reine Bienenhonige absolut klar, während Stärkesirup sich durch eine milchige Trübung bemerkbar macht.

Die Dextrine des echten Honigs werden nach diesem Verfahren nicht gefällt.

Auch die sogenannte Gärmethode gibt Aufschluß darüber, ob größere Mengen von Dextrin vorhanden sind oder nicht. Nach *E. Sieben* [2]) löst man 25 *g* Honig in *Raulin*scher Nährsalzlösung, welche folgendermaßen hergestellt wird: Man löst in $1^1/_2$ *l* Wasser 4 *g* Weinsäure, 4 *g* Ammoniumnitrat, 0·6 *g* Ammoniumphosphat, 0·25 *g* Ammoniumsulfat, 0·6 *g* Kaliumkarbonat, 0·07 *g* Kaliumsilikat, 0·4 *g* Magnesiumkarbonat, 0·07 *g* Eisensulfat und 0·07 *g* Zinksulfat. Die Lösung wird sterilisiert und nach dem Erkalten mit 5 cm^3 einer untergärigen Bierhefe, möglichst in Reinkultur, versetzt. Preß- oder Weinhefe dürfen nicht genommen werden, da sie Dextrine oder Maltose vergären. Die Gärung dauert etwa 5 Tage, wenn man bei 30° arbeitet. Dann setzt man Tonerdehydrat hinzu, füllt das Ganze auf 250 cm^3 auf und polarisiert im 200 *mm*-Rohr bei + 20°. Ist die Polarisation stark rechtsdrehend, so ist Stärkezucker vorhanden.

Das Verfahren von *Beckmann* [3]) beruht darauf, daß die Dextrine des Stärkezuckers und Stärkesirups, besonders ihre Barytverbindungen,

---

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. S. 31 (1909).

[2]) Zeitschr. d. Ver. f. Rübenind. S. 837 (1884).

[3]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. 4. S. 1065 (1901); Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 25. S. 263 (1896).

durch Methylalkohol gefällt werden, die natürlichen Honigdextrine dagegen nicht.

Nach *Beckmann* werden 5 *cm*³ Honiglösung (20 *g* Honig zu 100 *cm*³ Wasser) in einem Reagenzglase mit 3 *cm*³ einer 2%igen Barythydratlösung versetzt und mit 17 *cm*³ Methylalkohol vermischt. Reiner Honig gibt keine oder nur geringe flockige Ausscheidungen. Gewöhnliche Dextrine und Dextrine des Stärkesirups und Stärkezuckers werden sofort gefällt.

Aus dem spezifischen Drehungsvermögen[1] läßt sich ebenfalls die Gegenwart von Dextrinen des Stärkezuckers oder Stärkesirups bestimmen. Zu diesem Zwecke sind in der Honiglösung die Dextrine mit Alkohol zu fällen, durch wiederholtes Auflösen in Wasser und Fällen mit Alkohol zu reinigen und bei 105° zu trocknen. In einem Teil der getrockneten Dextrine wird die Aschenmenge bestimmt (a%), ein anderer Teil (b *g*) dient nach Lösung in Wasser (zu v *cm*³) zur Messung der Drehung des polarisierten Natriumlichtes. Aus dem abgelesenen Drehungswinkel (αD) und der Länge des Rohres (l *dm*) wird die spezifische Drehung der wasser- und aschefreien Dextrine berechnet nach der Formel:

$$(\alpha)D = \frac{\alpha D \cdot v \cdot 100}{l \cdot b \cdot (100 - a)}.$$

Eine spezifische Drehung von + 170° oder darüber läßt auf die Gegenwart von Dextrinen des Stärkezuckers oder Stärkesirups schließen.

e) Quantitative Bestimmung des Stärkezuckers.

Nach *E. Sieben* (l. c.) erhitzt man 25 *cm*³ der vergorenen und geklärten Lösung und 25 *cm*³ Wasser mit 4 *cm*³ Salzsäure (1·19) 2½ Stunden lang im kochenden Wasserbade; dann wird neutralisiert und auf 100 *cm*³ aufgefüllt. In 25 *cm*³ wird der Zucker nach *Allihn* (allgemeine Bestimmungsmethoden, S. 124) bestimmt.

Die gefundene Zuckermenge mit 40 multipliziert ergibt die Glukose in 100 *g* Honig und muß auf Dextrin durch Multiplizieren mit 0·9 umgerechnet werden.

Nach *Beckmann* nimmt man eine konzentriertere Honiglösung (bis 50%ig), welche vorher filtriert wird. Der Niederschlag mit Barythydrat (siehe oben) wird nach kräftigem einmaligen Umschütteln sofort durch Asbest in einem Goochtiegel abgesaugt, mit 10 *cm*³ Methylalkohol, dann mit 10 *cm*³ Äther gewaschen, bei 55—60° getrocknet und nach dem Erkalten gewogen.

Nach *Beckmann* geben 5 *cm*³ einer 5%igen Stärkesiruplösung 0·116 *g* Fällung, eine gleiche Stärkezuckerlösung 0·036 *g* Fällung.

7. Nachweis von Melasse.

Nach *Beckmann* und *H. Melzer*[2] versetzt man eine 25%ige Honiglösung mit 2·5 *g* Bleiessig und 22·5 *cm*³ Methylalkohol, wodurch bei

[1] „Entwürfe" des Kaiserl. Gesundheitsamtes. Jul. Springer. 1912.
[2] Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 35. S. 282 (1896).

Gegenwart von Melasse eine starke, weiße bis gelbliche Fällung entsteht.

8. Zuckerfreies Extrakt.

Es wird aus dem Gesamtextrakt berechnet, indem man den gefundenen Zuckergehalt abzieht.

9. Reaktion nach *Fiehe* auf künstlichen Invertzucker.

Der künstliche Invertzucker wird durch Erhitzen von Saccharose mit Säuren dargestellt, wobei es unvermeidlich ist, daß ein Teil der leicht zersetzlichen Fruktose weiter abgebaut wird, als beabsichtigt ist. Auf den Nachweis dieser Zersetzungsprodukte beruht die *Fiehe*sche Reaktion, und die Verbindung, welche nachgewiesen wird, ist das β-Oxymethylfurfurol. Es ist zuerst bei der Einwirkung von Oxalsäure auf Inulin unter erhöhtem Druck gefunden worden. Es stellt einen unbeständigen Körper von obstähnlichem Geruch dar, der sich nur schwer rein gewinnen läßt. *Kaiser*[1]) fand, daß ein Gehalt von 2 *mg* genügt, um eine deutliche Reaktion mit Resorzin zu verursachen, und selbst ein Gehalt von 1 *mg* läßt sich noch erkennen. Die Reaktion wird in der Weise ausgeführt, daß man 5—10 *g* Honig im Mörser mit Äther verreibt und diesen in ein kleines Porzellanschälchen abfiltriert. Den Äther läßt man bei möglichst niedriger Temperatur verdunsten. Zu dem trockenen Rückstand setzt man einige Tropfen einer Lösung von 1 *g* Resorzin in 100 *g* rauchender, konzentrierter Salzsäure vom spez. Gew. 1·19, oder man setzt zum ätherischen Auszug eine Messerspitze Resorzin und fügt nach dem Verdunsten des Äthers Salzsäure hinzu. Bei Gegenwart von künstlichem Invertzucker tritt orangerote Färbung auf, welche rasch in Kirschrot und schließlich in Braunrot übergeht. Die Reaktion muß beständig sein, und die kirschrote Farbe muß mindestens eine Stunde bestehen bleiben.

Man kann die Reaktion auch so ausführen, daß man dem Ätherauszug etwas Resorzin zusetzt, den Äther verdunstet und die Porzellanschale dann einen Augenblick in einen Exsikkator stellt, welcher mit rauchender Salzsäure beschickt worden ist. Die Reaktion muß dann ebenfalls eintreten.

Es kann vorkommen, daß auch bei reinen Honigen sich eine schwachrote Färbung zeigt, welche aber nicht typisch blaurot ist; namentlich treten häufig Rosafärbungen auf, die auch an Stärke zunehmen können, aber nicht beständig sind. Diese Reaktion ist nicht maßgebend; sie beruht darauf, daß durch Resorzinsalzsäure die Fruktose des Honigs angegriffen wird, wodurch eine schwache Reaktion entsteht.

Da sich das β-Oxymethylfurfurol chemisch zur Fruktose ebenso verhält, wie das Furfurol zur Pentose, so zeichnen sich auch beide durch die gleiche Reaktionsfähigkeit mit aromatischen Phenolen aus und *Kaiser*[2]) fand, daß namentlich Thymol und β-Naphthol ebenfalls cha-

[1]) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. S. 637 (1909).
[2]) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. S. 656 (1909).

rakteristische Reaktionen geben. Thymol gibt mit Oxymethylfurfurol intensiv scharlachrote Färbung. Naphthol intensiv rotviolette Färbung. Die Reaktionen werden in der Weise ausgeführt, daß die wässerige Lösung des ätherischen Extraktes von Honig mit alkoholischen Lösungen von Thymol (15%) oder Naphthol (verdünnte Lösung) bei Gegenwart von konzentrierter Schwefelsäure versetzt werden.

Einfaches Erhitzen bis auf 100°, auch wenn es längere Zeit fortgesetzt wird, verursacht keine Reaktion; ebenso verhält sich künstlicher Invertzucker, welcher bei niedriger Temperatur durch Fermentwirkung hergestellt worden ist.

Bei stark erhitzten Honigen tritt die *Fiehe*sche Reaktion aber auch ein, da sich beim Erhitzen der gleiche Stoff bildet. Auch in echtem Honig soll Oxymethylfurfurol vorkommen können, wie *Lührig*[1]) fand, wenn die Bienen mit Kunsthonig gefüttert worden sind.

Von Wichtigkeit ist es daher, zu wissen, ob ein Honig erhitzt worden ist oder nicht, dazu dient der Nachweis von Fermenten, welche im Naturhonig vorkommen.

10. Nachweis diastatischer Fermente.

Nach *Marpmann*[2]) mischt man 10 *cm*³ einer 20%igen Honiglösung mit 5—10 Tropfen einer 2%igen Lösung von Paraphenylendiamin und fügt dann tropfenweise Wasserstoffsuperoxyd hinzu. Reiner Honig zeigt bei dieser Behandlung Blaufärbung. Erhitzter Honig dagegen gibt diese Reaktion nicht, wenn die Fermente abgetötet worden sind, was bei 85° sicher der Fall ist.

Der Nachweis kann auch in der Weise geführt werden, daß man 5 *cm*³ einer 20%igen Honiglösung mit 1 *cm*³ einer 1%igen Lösung von Stärke versetzt und eine Stunde bei 40° erwärmt. Nach Zusatz einiger Tropfen einer Lösung von Jod-Jodkalium (0·3% J) wird die Färbung beobachtet.

Sind diastatische Fermente vorhanden, so wird keine Blaufärbung zu erkennen sein, da alle Stärke verzuckert ist. Die Färbung ist dann gelblich, grün oder braun. Die Blaufärbung muß sofort eintreten.

11. Reaktion *Ley*.[3])

Sie soll ebenfalls zur Unterscheidung von Kunsthonig und Naturhonig dienen. Zur Ausführung werden 5 *cm*³ einer Honiglösung (1 + 2) mit 5 Tropfen des *Ley*schen Reagenses versetzt. Das Reagenzröhrchen wird gut bedeckt 5 Minuten in ein siedendes Wasserbad gestellt, dann wird sofort das Aussehen und die Färbung beobachtet, welche bei reinem Naturhonig einen gelblichgrünen Schein besitzt. Das Reagens wird dargestellt, indem man 1 *g* Silbernitrat in 10—20 *cm*³ Wasser löst und das Silber mit Natronlauge ausfällt. Nachdem der Niederschlag mit Wasser

[1]) Jahresbericht der chemischen Untersuchungsanstalt Breslau 1908.

[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 8. S. 518 (1904).

[3]) Ebendort. Bd. 8. S. 519 (1904).

gut ausgewaschen worden ist, wird er in 10%igem Ammoniak gelöst und das Gesamtgewicht auf 12 *g* gebracht.

12. Tanninfällung nach *R. Lund*.[1])

10 *cm*³ einer 20%igen Coniglösung werden filtriert, das Filter mit Wasser gut nachgewaschen und das Filtrat auf 35 *cm*³ aufgefüllt. Man benutzt hierzu am besten graduierte Röhrchen, welche im oberen Teile 16, im unteren 8 *mm* lichte Weite haben. Man fügt dann 5 *cm*³ einer 0·5%igen Tanninlösung hinzu und mischt den Inhalt vorsichtig. Nach 24 Stunden wird das Volumen des Niederschlages abgelesen. Dieser soll bei reinem Honig 1·4—2·3 *cm*³, bei Kunsthonig 0—0·3 *cm*³ betragen.

Dunkle Färbung des Niederschlages weist auf einen Eisengehalt hin, der im Kunsthonig fast immer angetroffen wird, im Naturhonig aber fehlt.

13. Die biologische Reaktion.

Zum Nachweise von echtem Honig gelingt dieselbe ebenfalls mit Hilfe von Antisera, welche aus Honigeiweiß dargestellt worden sind. Die Ergebnisse geben aber nur Auskunft darüber, ob echter Honig überhaupt vorhanden ist, nicht aber ob reiner Honig vorliegt.

Alkohol, Branntwein und Liköre.

Branntweine[2]) sind alkoholische Getränke, die durch Destillation alkoholhaltiger Flüssigkeiten gewonnen werden. Reine Branntweine sind Destillationserzeugnisse mit hohem Alkohol- und geringem Extraktgehalt; Liköre enthalten außerdem Pflanzenauszüge, ätherische Öle oder Zucker. Diese zerfallen wieder in eigentliche Liköre mit höherem Zuckergehalt und Bittere, welche zuckerfrei sind oder nur wenig Zucker, dafür aber alkoholische Pflanzenauszüge enthalten.

Die wichtigsten Branntweine sind Kartoffelbranntwein, Kornbranntwein, Rüben- und Melassenbranntwein, Wein-, Obstwein-, Trester- und Hefenbranntwein, Kirsch- und Zwetschkenbranntwein. Kognak ist ein Erzeugnis der Destillation des Weines; der hauptsächlich in Westindien hergestellte Rum ist ein Erzeugnis der Destillation der vergorenen Zuckerrohrmelasse. Zur Herstellung des Araks dient der Blütenkolben der Kokospalme (Ceylon) und Reis (Java).

Bestandteile der Branntweine.

Neben Äthylalkohol und Wasser sind in Branntweinen folgende Nebenerzeugnisse der Gärung und Destillation nachgewiesen worden.

Höhere Alkohole: Hauptsächlich Amylalkohol, Isobutylalkohol [mitunter auch normaler (Butylalkohol)], normaler Propylalkohol, kleine

---

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 17. S. 128 (1909).

[2]) Nach „Vereinbarungen".

Mengen Hexylalkohol, Heptylalkohol, Oktylalkohol und noch höhere Alkohole.

Fettsäuren: Hauptsächlich Essigsäure, dann Buttersäure, Ameisensäure, Propionsäure, Baldriansäure, Kapronsäure (Hexylsäure), Önanthsäure (Heptylsäure), Kaprylsäure (Oktylsäure), Pelargonsäure (Nonylsäure), Kaprinsäure, Palmitinsäure und Margarinsäure.

Fettsäureester: Die Verbindungen der genannten Fettsäuren mit Äthylalkohol und den übrigen Alkoholen, namentlich Essigäther.

Aldehyde: Hauptsächlich Azetaldehyd, dessen Polymere: das Paraldehyd und Metaldehyd, sowie Azetal (Äthylidendiäthyläther), ferner Butyraldehyd, Valeraldehyd, Akrolein, Krotonaldehyd und Furfurol.

Basen (in sehr geringen Mengen): Ammoniak (Trimethylamin), Pyridin, Kollidin und andere Pyridinbasen, sowie höhere organische Basen.

Weitere Bestandteile: Kleine Mengen Glyzerin, Isobutylenglykol, ätherische Öle, Terpene, Terpenhydrate, Kampferarten, Eugenol, Koniferylalkohol, Vanillin, Riechstoffe unbekannter Zusammensetzung. Im Kirsch- und Zwetschkenbranntwein, sowie in anderen Steinobstbranntweinen sind Blausäure, Benzaldehyd, die Verbindung beider, Benzaldehydcyanhydrin, Benzoësäure und Benzoësäureester enthalten.

Der Gehalt der gewöhnlichen Trinkbranntweine an Fuselöl im engeren Sinne, d. h. an höheren Alkoholen, schwankt innerhalb weiter Grenzen. Je nachdem zur Herstellung ganz oder teilweise gereinigter Spiritus, Rohspiritus oder Abgänge der Spiritusrektifikation verwendet werden, beträgt der Gehalt 0—0·5 Vol.-% und noch mehr. Kognak enthält meist 0·1—0·25, Rum 0—0·15, Arak 0—0·1, Kirschbranntwein 0·03—0·15, Zwetschkenbranntwein 0·1—0·3, Tresterbranntwein 0·3—0·4 Vol.-% Fuselöl in 100 Raumteilen Branntwein.

Die Liköre und Bitterbranntweine werden meist aus reinem, rektifiziertem Weingeist (Kartoffelfeinsprit) hergestellt.

Die Untersuchung erstreckt sich in der Regel nur auf die Ermittelung des spezifischen Gewichtes, des Gehalts an Alkohol, Extraktstoffen, Zucker, Mineralbestandteilen, Gesamtsäure, Fuselöl, sowie auf den Nachweis von Aldehyd und Furfurol. In gewissen Fällen ist außerdem der Nachweis oder die Bestimmung der Gesamtester, von Stärkezucker und Stärkezuckersirup, künstlichen Süßstoffen (Saccharin, Dulzin), Glyzerin, Bitterstoffen und scharf schmeckenden Stoffen, Farbstoffen, Metallen, freien Mineralsäuren, Denaturierungsmitteln, sowie bei Steinobstbranntweinen (Kirsch-, Zwetschkenbranntwein), von Blausäure und Benzaldehyd erforderlich.

Die einzelnen Bestandteile der Branntweine sind als Gramme in 100 cm^3 anzugeben.

1. Bestimmung des spezifischen Gewichtes.

Die Bestimmung des spezifischen Gewichts erfolgt bei 15° C mittelst Pyknometers.

2. Bestimmung des Alkohols.

a) Der Alkoholgehalt von Branntweinen mit wenig Extrakt (gewöhnliche Trinkbranntweine, Kirschbranntwein, Arak usw.) kann unmittelbar aus dem spezifischen Gewicht mit Hilfe der Alkoholtafel von *K. Windisch* (siehe Abschnitt „Wein") ermittelt werden.

b) In extraktreichen Branntweinen wird der Alkohol in ähnlicher Weise wie im Weine bestimmt. Branntweine mit mehr als 60 Gewichtsprozent Alkohol verdünnt man vor der Destillation mit gleichen Teilen Wasser. Auch bei zuckerreichen Likören ist eine Verdünnung mit Wasser vor der Destillation zweckmäßig, damit der Destillationsrückstand nicht anbrennt. Ist der Branntwein reich an Estern, so muß er mit einem kleinen Überschuß von Alkali destilliert werden. Wird eine Fuselölbestimmung ausgeführt, so kann man die Alkoholbestimmung damit verbinden.

Bei Likören, Bittern und Essenzen, die erhebliche Mengen ätherischer Öle enthalten, sind diese nach dem Verdünnen mit Wasser vorher durch Sättigen mit Salz abzuscheiden. Sie können in Äther gelöst und für sich untersucht werden.

3. Nachweis und Bestimmung des Methylalkohols in Branntweinen (einschließlich Likören, versetzten Branntweinen, Essenzen und Fruchtsäften).

Der Nachweis erfolgt nach der amtlichen Anweisung, welche in der Branntweinsteuerbefreiungsordnung angegeben ist.

Enthält ein Branntwein aromatische Bestandteile (Ester, ätherische Öle u. dgl.), so sind diese zunächst aus 100 cm^3 durch Aussalzen zu entfernen. Dann ist die gesamte Salzlösung zu destillieren, bis 10 cm^3 übergegangen sind. Von solchen Proben, die frei von aromatischen Bestandteilen sind, aber Extraktstoffe enthalten, werden 100 cm^3 ohne weiteres destilliert, bis 10 cm^3 übergegangen sind. Von Proben, die weder aromatische Bestandteile noch Extraktstoffe enthalten, können 10 cm^3 ohne Destillation zur Prüfung verwendet werden.

Bei der Beurteilung des Prüfungsergebnisses ist zu beachten, daß in den Destillaten verschiedener vergorener Obst- und Beerensäfte (z. B. der Säfte von schwarzen Johannisbeeren, Pflaumen, Zwetschken, Mirabellen, Kirschen, Äpfeln, Weintrauben), in gewissen Trinkbranntweinen, z. B. im Rum, sowie in Essenzen bisweilen geringe Mengen von Methylalkohol von Natur vorkommen können.

a) Anreicherung des Methylalkohols. 10 cm^3 des Destillates werden in ein etwa 50 cm^3 fassendes Kölbchen gegeben. Auf dieses wird ein etwa 75 cm langes, in gleichen Abständen zweimal rechtwinklig gebogenes Glasrohr aufgesetzt, welches zugleich zum Kühlen dient. Als Vorlage dient ein Meßzylinder von 10 cm^3 Inhalt, welcher in halbe Kubikzentimeter geteilt

ist. Das Kölbchen wird mit einer kleinen Flamme vorsichtig erhitzt, bis 4 *cm*³ Destillat übergegangen ist. Das Ende des Destillationsrohres darf hierbei nicht warm werden. Mit dem Destillat ist nach *b)* weiter zu verfahren.

b) Prüfung auf Methylalkohol. Das nach *a)* erhaltene Destillat wird mit 4 *cm*³ 20%iger Schwefelsäure vermischt und in ein weites Probierglas gegossen, dann wird 1 *g* fein zerriebenes Kaliumpermanganat in kleinen Teilen hinzugegeben, wobei das Gemisch in Eiswasser gekühlt und lebhaft geschüttelt wird. Sobald die violette Farbe verschwunden ist, wird durch ein kleines, trockenes Filter in ein Probierglas filtriert; falls das Filtrat noch rötlich ist, wird es einige Sekunden gelinde erwärmt, bis es farblos geworden ist. Von dieser Flüssigkeit wird 1 *cm*³ in einem nicht zu dünnwandigen Probierglase vorsichtig und unter Eiskühlung mit 5 *cm*³ konzentrierter Schwefelsäure vermischt. Zu der Mischung werden 2·5 *cm*³ einer frisch bereiteten Lösung von 0·2 *g* Morphinhydrochlorid in 10 *cm*³ konzentrierter Schwefelsäure hinzugefügt, worauf die Flüssigkeit mit einem Glasstabe vorsichtig durchgerührt wird.

c) Beurteilung der Ergebnisse. Enthält die zu prüfende Flüssigkeit Methylalkohol, so entsteht bald, spätestens aber innerhalb 20 Minuten, eine violette bis dunkelviolette Färbung. Methylalkoholfreie Erzeugnisse liefern nur eine schmutzige Trübung.

Entsteht die Färbung fast sofort und sehr stark, so kann ohne weiteres angenommen werden, daß Methylalkohol zugesetzt worden ist. In zweifelhaften Fällen sind Gegenversuche mit Mischungen von bekannten Methylalkoholmengen mit Branntweinen von möglichst gleicher Zusammensetzung wie der untersuchte und unter gleichen Untersuchungsbedingungen anzustellen. Ist die Färbung nur ganz schwach oder entsteht sie erst nach Ablauf der angegebenen Zeit, so ist die Anwesenheit von Methylalkohol in der Probe nicht erwiesen.

Eine weitere Bestimmung ist beim Nachweis von Denaturierungsmitteln angegeben (S. 352).

Zur quantitativen[1]) Bestimmung von Methylalkohol in Branntweinen benutzt man die Eigenschaft der konzentrierten Alkohole (etwa 90%ig), bei gleicher Konzentration annähernd das gleiche spezifische Gewicht zu besitzen. Sie unterscheiden sich aber bei der Elementaranalyse durch den großen Unterschied im Kohlenstoffgehalt (Methylalkohol = 37·5%, Äthylalkohol = 52·18%).

Zur Anreicherung an Alkohol wird der Trinkbranntwein zunächst mehrfach fraktioniert destilliert, bis nur Wasserdämpfe übergehen (Erkennung am Thermometer). Der Rückstand jeder Fraktion muß stets mittelst der Jodoformreaktion auf Abwesenheit von Äthylalkohol geprüft werden. Das Destillat wird schließlich mit entwässertem Kupfersulfat behandelt und nochmals destilliert. Von diesem Destillat wird das spezifische Gewicht bestimmt und eine Elementaranalyse ausgeführt. Ein 100%iger Äthylalkohol differiert

[1]) *A. Juckenack* u. a., Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. S. 7 (1912).

mit einem gleichen Methylalkohol um einen Kohlenstoffgehalt von + 14·68%; 1% Äthylalkohol würde daher dem Methylalkohol eine Erhöhung des Kohlenstoffgehaltes um 0·1468% bringen. Demnach gilt die Formel

$$x = \frac{\frac{G \times 101}{P} - 37{\cdot}5}{0{\cdot}1468},$$

worin x der gesuchte Gehalt an Äthylalkohol, G der gefundene Kohlenstoffgehalt und P der Gesamtalkohol in Gewichtsprozenten ist, berechnet aus dem spezifischen Gewicht.

Beispiel: Gefundener C-Gehalt = 37·95%,
spezifisches Gewicht (15°) = 0·8224,

das entspricht einem Alkoholgehalt nach *Windisch* von 90·24 Gew.-% Äthylalkohol.

$$x = \frac{\frac{37{\cdot}95 \,.\, 100}{90{\cdot}24} - 37{\cdot}5}{0{\cdot}1468} = 31{\cdot}06\%\ \text{Äthylalkohol.}$$

4. Bestimmung des Extraktes.

a) Bei Branntweinen, deren Alkoholgehalt unmittelbar aus dem spezifischen Gewichte abgeleitet wird, wird der Extraktgehalt wie in Weinen mit weniger als 3 *g* Extrakt in 100 *cm*³ bestimmt (siehe Abschnitt „Wein").

b) Bei Branntweinen, deren Alkoholgehalt nach dem Destillationsverfahren bestimmt wird, erfolgt die Extraktbestimmung ebenfalls wie im Wein. Bei der Ausführung ist wallendes Sieden des Branntweines zu vermeiden.

5. Bestimmung des Zuckers bzw. der Stoffe, welche *Fehling*sche Lösung reduzieren.

Die Bestimmung des Zuckers erfolgt nach dem Neutralisieren und Entgeisten des Branntweines wie in Fruchtsäften (vgl. S. 322).

6. Bestimmung der Mineralstoffe.

Der Gehalt an Mineralstoffen wird durch Veraschen des Extraktes oder Abdampfrückstandes wie im Wein bestimmt. In der Asche kann zugleich der Kalk ermittelt werden.

7. Bestimmung der Gesamtsäure.

Von farblosen oder nur schwach gefärbten Branntweinen werden 50—100 *cm*³ nach Zusatz einiger Tropfen alkoholischer Phenolphtaleïnlösung mit $^1/_{10}$-Normalalkali titriert. Bei stärker gefärbten Branntweinen wird auf empfindlichem, violettem Lackmuspapier getüpfelt; der Sättigungspunkt ist erreicht, wenn ein auf das trockene Lackmuspapier aufgesetzter Tropfen keine Rötung mehr hervorruft. Bei hohem Alkoholgehalt verdünnt man den Branntwein mit Wasser. Enthält ein Branntwein größere Mengen Kohlensäure, die mit Kalkwasser nachgewiesen wird, so wird diese durch Kochen am Rückflußkühler ausgetrieben, bevor die Säure bestimmt wird. Die Gesamtsäure der Branntweine ist als Essigsäure ($C_2H_4O_2$) zu berechnen.

8. Bestimmung des Fuselöls.

Die Bestimmung des Fuselöls erfolgt nach der amtlichen „Anweisung[1]) zur Bestimmung des Gehaltes der Branntweine an Nebenerzeugnissen der Gärung und Destillation“ vom 17. Juli 1895 mit der Änderung, daß der Branntwein zunächst mit Alkali zu destillieren ist.

Chloroform vermag aus 30 vol.-%igem Alkohol nur verhältnismäßig wenig Alkohol aufzunehmen, dagegen nimmt es die höheren Glieder der Alkohole der Methanreihe so gut wie vollständig auf.

200 cm^3 Alkohol werden bei 15° abgemessen, mit etwas Alkali versetzt und in einem Kolben der Destillation unterworfen, bis etwa 4/5 abdestilliert ist. Nach dem Erkalten wird mit Wasser wieder auf 200 cm^3 aufgefüllt und nach der folgenden Anweisung weiter geprüft.

a) Bestimmung der Dichte (des spezifischen Gewichtes) bzw. des Alkoholgehaltes des Branntweins.

Zur Feststellung der Dichte des Branntweines bedient man sich eines mit einem Glasstopfen verschließbaren Dichtefläschchens von 50 cm^3 Raumgehalt. Das Dichtefläschchen wird in reinem, trockenem Zustande leer gewogen, nachdem es eine halbe Stunde im Wagekasten gestanden hat. Dann wird es mit Hilfe eines fein ausgezogenen Glockentrichters bis über die Marke mit destilliertem Wasser gefüllt und in ein Wasserbad von 15° C gestellt. Nach einstündigem Stehen im Wasserbade wird das Fläschchen herausgehoben, wobei man nur den leeren Teil des Halses anfaßt, und es wird sofort die Oberfläche des Wassers auf die Marke eingestellt. Dies geschieht durch Eintauchen kleiner Stäbchen oder Streifen aus Filtrierpapier, die das über der Marke stehende Wasser aufsaugen. Die Oberfläche des Wassers bildet in dem Halse des Fläschchens eine nach unten gekrümmte Fläche; man stellt die Flüssigkeit am besten in der Weise ein, daß bei durchfallendem Lichte der schwarze Rand der gekrümmten Oberfläche soeben die Marke berührt. Nachdem man den inneren Hals des Fläschchens mit Stäbchen aus Filtrierpapier getrocknet hat, setzt man den Glasstopfen auf, trocknet das Fläschchen äußerlich ab, stellt es eine halbe Stunde in den Wagekasten und wägt es. Die Bestimmung des Wasserinhaltes des Dichtefläschchens ist dreimal auszuführen und aus dem Ergebnisse der drei Wägungen das Mittel zu nehmen. Wenn das Dichtefläschchen längere Zeit im Gebrauche gewesen ist, müssen die Gewichte des leeren und des mit Wasser gefüllten Fläschchens von neuem bestimmt werden, da diese Gewichte mit der Zeit sich nicht unerheblich ändern können. Nachdem man das Dichtefläschchen entleert und getrocknet oder mehrmals mit dem zu untersuchenden Branntwein ausgespült hat, füllt man es mit dem Branntwein und verfährt in derselben Weise, wie bei der Bestimmung des Wasserinhaltes des Dichtefläschchens; besonders ist darauf

[1]) Zeitschr. f. anal. Chemie S. 34 (1895).

zu achten, daß die Einstellung der Flüssigkeitsoberfläche stets in derselben Weise geschieht.

Bedeutet:

a das Gewicht des leeren Dichtefläschchens,

b das Gewicht des bis zur Marke mit destilliertem Wasser von 15° C gefüllten Dichtefläschchens,

c das Gewicht des bis zur Marke mit Branntwein von 15° C gefüllten Dichtefläschchens,

so ist die Dichte d des Branntweins bei 15° C, bezogen auf Wasser von derselben Temperatur $d = \frac{c - a}{b - a}$.

Den der Dichte entsprechenden Alkoholgehalt des Branntweins in Gewichtsprozenten entnimmt man der zweiten Spalte der Alkoholtafel von *Windisch* (siehe Abschnitt „Wein").

b) Verdünnung des Branntweins auf einen Alkoholgehalt von 24·7 Gewichtsprozent.

100 cm^3 des Branntweins, dessen Alkoholgehalt bestimmt wurde, werden bei 15° C in einem amtlich geaichten Meßkölbchen abgemessen und in eine Flasche von etwa 400 cm^3 Raumgehalt gegossen. Die Hilfstafel I lehrt, wieviel Kubikzentimeter destillierten Wassers von 15° C zu 100 cm^3 Branntwein von dem vorher bestimmten Alkoholgehalte zugefügt werden müssen, um einen Branntwein von annähernd 24·7 Gewichtsprozent Stärke zu erhalten. Man läßt die aus der Tafel I[1]) sich ergebende Menge Wasser von 15° C aus einer in $^1/_5$ cm^3 geteilten, amtlich geaichten Bürette zu dem Branntwein fließen, wobei etwa 50 cm^3 Wasser zum Ausspülen des Kölbchens dienen. Man schüttelt die Mischung um, verstopft die Flasche, kühlt die Flüssigkeit auf 15° C ab und bestimmt aufs neue die Dichte, bzw. den Alkoholgehalt nach der unter *a)* gegebenen Vorschrift. Der Alkoholgehalt des verdünnten Branntweins beträgt genau oder nahezu 24·7 Gewichtsprozent. Ist er höher als 24·7 Gewichtsprozent, so setzt man noch eine nach Maßgabe der Hilfstafel I berechnete Menge Wasser von 15° C zu dem verdünnten Branntwein. Ist der Alkoholgehalt des verdünnten Branntweins niedriger als 24·7 Gewichtsprozent, so entnimmt man aus der Hilfstafel II die Anzahl Kubikzentimeter absoluten Alkohols von 15° C, die auf 100 cm^3 des verdünnten Branntweins zuzusetzen sind. Die erforderliche Menge absoluten Alkohols wird mit Hilfe einer amtlich geaichten Meßpipette oder Bürette zugegeben, die in $^1/_{50}$ oder $^1/_{100}$ cm^3 geteilt ist.

Beträgt der Alkoholgehalt des verdünnten Branntweins nicht weniger als 24·6 und nicht mehr als 24·8 Gewichtsprozent, so wird er durch den berechneten Wasser- oder Alkoholzusatz hinreichend genau an 24·7 Gewichtsprozent gebracht; von einer nochmaligen Alkoholbestimmung kann in diesem Falle abgesehen werden. Wird dagegen der Alkoholgehalt des verdünnten Branntweins kleiner als 24·6 oder größer als 24·8 Gewichts-

[1]) Nicht angegeben, da die Mengen auch berechnet werden können.

prozent gefunden, so muß der Alkoholgehalt nach Zugabe der berechneten Menge Wasser oder Alkohol nochmals bestimmt werden, um festzustellen, ob er nunmehr hinreichend genau gleich 24·7 Gewichtsprozent ist. Ein hierbei sich ergebender Unterschied muß durch einen dritten Zusatz von Wasser oder Alkohol nach Maßgabe der Hilfstafel I bzw. II ausgeglichen werden

c) Ausschütteln des verdünnten Branntweins von 24·7 Gewichtsprozent Alkohol mit Chloroform.

Zwei amtlich geaichte Schüttelapparate[1] werden in geräumige mit Wasser gefüllte Glasgefäße gesenkt, das Wasser wird auf die Temperatur von 15° C gebracht. Sodann gießt man mittelst eines Trichters, dessen in eine Spitze auslaufende Röhre bis zu dem Boden der Schüttelapparate reicht, in jeden der beiden Schüttelapparate etwa 20 *cm*³ Chloroform von 15° C und stellt die Oberfläche des Chloroforms genau auf den untersten die Zahl 20 tragenden Teilstrich ein; einen etwaigen Überschuß an Chloroform nimmt man mit einer langen in eine Spitze auslaufenden Glasröhre mit der Vorsicht aus den Apparaten, daß die Wände nicht von Chloroform benetzt werden. In jeden Apparat gießt man 100 *cm*³ des auf einen Alkoholgehalt von 24·7 Gewichtsprozent verdünnten Branntweines, die man in amtlich geaichten Meßkölbchen abgemessen und auf die Temperatur von 15° C gebracht hat, und läßt je 1 *cm*³ verdünnte Schwefelsäure von der Dichte 1·286 bei 15° C zufließen. Man verstopft die Apparate und läßt sie zum Ausgleiche der Temperatur etwa ¼ Stunde in dem Kühlwasser von 15° C schwimmen. Dann nimmt man einen gut verstopften Apparat aus dem Kühlwasser heraus, trocknet ihn äußerlich rasch ab, läßt durch Umdrehen den ganzen Inhalt in den weiten Teil des Apparates fließen, schüttelt das Flüssigkeitsgemenge 150mal kräftig durch und senkt den Apparat wieder in das Kühlwasser von 15° C; genau ebenso verfährt man mit dem zweiten Apparate. Das Chloroform sinkt rasch zu Boden; kleine in der Flüssigkeit schwebende Chloroformtröpfchen bringt man durch Neigen und Umherwirbeln der Apparate zum Niedersinken. Wenn das Chloroform sich vollständig gesammelt hat, wird seine Raummenge, d. h. der Stand des Chloroforms in der eingeteilten Röhre, abgelesen.

d) Berechnung der Menge der in dem Branntweine enthaltenen Nebenerzeugnisse der Gärung und Destillation (Fuselöl).

Zur Berechnung des Gehaltes des Branntweins an Nebenerzeugnissen der Gärung und Destillation muß die Vermehrung der Raummenge bekannt sein, die das Chloroform beim Schütteln mit vollkommen reinem Branntwein von 24·7 Gewichtsprozent erleidet. Man bestimmt sie in der Weise, daß man mit dem reinsten Erzeugnisse der Branntweinreinigungsanstalten, dem sogenannten neutralen Weinsprit, genau nach den unter *a)*, *b)* und *c)*

[1] Sogenannte *Röse*sche Apparate.

gegebenen Vorschriften verfährt und die Raummenge des Chloroforms nach dem Schütteln feststellt. Wegen der grundsätzlichen Bedeutung dieses Versuches mit reinstem Branntwein ist der Alkoholgehalt mit größter Genauigkeit auf 24·7 Gewichtsprozent zu bringen, und die Ermittelung der Raummenge des Chloroforms ist für jeden Schüttelapparat 3—5mal zu wiederholen.

Dieser Versuch mit reinem Branntwein muß für jedes neue Chloroform und jeden neuen Apparat wieder angestellt werden; solange dasselbe Chloroform und dieselben Apparate verwendet werden, ist nur eine Versuchsreihe nötig. Man mache daher den Vorversuch mit einem Chloroform, von dem eine größere Menge zur Verfügung steht. Das Chloroform ist vor Licht geschützt, am besten in Flaschen aus braunem Glase, aufzubewahren.

Ist die Raummenge des Chloroforms nach dem Ausschütteln des Branntweins gleich a Kubikzentimeter, ferner die Raummenge des Chloroforms nach dem Ausschütteln des im Absatz 1 bezeichneten verdünnten Weinsprits gleich b Kubikzentimeter, so zieht man b von a ab. Je nachdem a—b kleiner oder größer ist als 0·45 *cm*³, enthält der Branntwein weniger oder mehr als 1 Gewichtsprozent Nebenerzeugnisse der Gärung und Destillation auf 100 Gewichtsteile wasserfreien Alkohols. Die Anzahl Gewichtsprozente der Nebenerzeugnisse bis zu 5% erhält man erforderlichenfalls durch Vervielfältigung des Unterschiedes a—b mit 2·22.

Im Kaiserlichen Gesundheitsamt[1] ist für reinen 30 vol.-%igen Alkohol eine absolute Steighöhe von 1·64 gefunden worden, und da 20 *cm*³ Chloroform zum Ausschütteln angewendet worden sind, so ist der 0-Punkt der folgenden Tabelle = 21·64 (S. 348).

Die gefundene Menge Fuselöl bedarf noch einer weiteren Umrechnung, da sie nicht den Gehalt des Branntweines, sondern den Gehalt des auf 30 Vol.-% verdünnten Destillates angibt.

Die Formel für die Umrechnung lautet:

$$x = \frac{f(100 + a)}{100},$$

wobei f die Kubikzentimeter Fuselöl sind, welche bei der Bestimmung gefunden worden sind, x bedeuten die Kubikzentimeter Fuselöl in 100 *cm*³ des ursprünglichen Branntweins und a sind die Kubikzentimeter Wasser oder Alkohol, welche dem Branntwein zur Verdünnung zugesetzt wurden.

9. Nachweis der Aldehyde.

Enthält ein Branntwein Zucker oder ist er nicht farblos, so ist zum Nachweise das Destillat (25—50 *cm*³) von 100 *cm*³ Branntwein zu verwenden.

Man prüft das Destillat:

a) Mit einer durch schweflige Säure entfärbten Fuchsinlösung: 0·5 *g* reinstes Diamantfuchsin werden in ½ *l* destillierten Wassers unter schwachem Erwärmen gelöst; die Lösung wird filtriert und mit

[1] Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 4. S. 109 (1888).

Tafel zur Ermittlung des Fuselölgehaltes
(nach den Beobachtungen im Kaiserl. Gesundheitsamte.

Abgelesen cm^3	Vol.-% Fuselöl	Abgelesen cm^3	Vol.-% Fuselöl
21·64	0	21·98	0·2255
21·66	0·0133	22·00	0·2387
21·68	0·0265	22·02	0·2520
21·70	0·0398	22·04	0·2652
21·72	0·0530	22·06	0·2785
21·74	0·0663	22·08	0·2918
21·76	0·0796	22·10	0·3050
21·78	0·0928	22·12	0·3183
21·80	0·1061	22·14	0·3316
21·82	0·1194	22·16	0·3448
21·84	0·1326	22·18	0·3581
21·86	0·1459	22·20	0·3713
21·88	0·1591	22·22	0·3846
21·90	0·1724	22·24	0·3979
21·92	0·1857	22·26	0·4111
21·94	0·1989	22·28	0·4244
21·96	0·2122		

einer Lösung von 3·9 *g* schwefliger Säure (SO_2) in $^1/_2$ *l* Wasser gemischt. Der Gehalt der Lösung an schwefliger Säure ist jodometrisch festzustellen. Nach Verlauf einiger Stunden ist die Mischung wasserhell, falls reines Fuchsin verwendet wurde.

Der zu untersuchende Branntwein wird mit so viel Wasser verdünnt, daß seine Alkoholstärke ungefähr 30 Vol.-% beträgt. In ein Probierröhrchen, welches unmittelbar zuvor mit wässeriger schwefliger Säure ausgespült wurde, bringt man zwei Raumteile des zu untersuchenden Branntweines und einen Raumteil des Reagens. Man schließt sofort die Öffnung des Glases durch einen Gummistopfen, um die Einwirkung des atmosphärischen Sauerstoffes möglichst abzuhalten und beobachtet nach Verlauf von 2 Minuten die entstandene Färbung: eine Rotfärbung zeigt Aldehyd an. Als Vergleichsflüssigkeit kann man eine Lösung von Aldehydammoniak (1 : 10.000) verwenden, auf die man in gleicher Weise die fuchsinschweflige Säure einwirken läßt. Zur Ausführung einer quantitativen kolorimetrischen Bestimmung des Aldehyds sei auf die Mitteilungen von *Medicus* und *Paul*[1]) verwiesen.

b) Mit m-Phenylendiaminchlorhydrat nach *W. Windisch.*[2]) Man versetzt den Branntwein mit einer Auflösung von reinem m-Phenylendiaminchlorhydrat in ausgekochtem Wasser; bei Gegenwart von Aldehyd ent-

[1]) Forschungsberichte über Lebensmittel. Bd. 2. S. 299 (1895).
[2]) Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Bd. 9. S. 519 (1886).

steht Gelbfärbung und nach einigem Stehen zeigt sich eine starke grüne Fluoreszenz.

c) Mit *Nesslers* Reagens (alkalischer Kaliumquecksilberjodidlösung) nach *W. Windisch.*[1]) Man versetzt den Branntwein mit einigen Tropfen *Nesslers* Reagens. Je nach dem Gehalte an Aldehyd entsteht ein hellgelber oder rotgelber Niederschlag.

d) Ammoniakalische Silberlösung wird durch aldehydhaltigen Branntwein unter Abscheidung von Silber, in Form eines schwarzen Niederschlages oder eines Silberspiegels, reduziert.

e) Beim Kochen mit Alkali färbt sich aldehydhaltiger Branntwein gelb.

10. Nachweis des Furfurols.

Man versetzt 10 cm^3 farblosen Branntweins mit 10 Tropfen farblosem Anilin und 2—3 Tropfen Salzsäure (spez. Gew. 1·125). Eine Rotfärbung zeigt Furfurol an.

11. Bestimmung der Gesamtester.

100 cm^3 Branntwein, bei zuckerhaltigen oder gefärbten Branntweinen deren Destillat, werden in einem Kolben aus Jenaer Glas zunächst mit $^1/_{10}$-Normalalkali unter Verwendung von Phenolphtaleïn genau neutralisiert, dann mit einer abgemessenen, je nach dem Estergehalte verschiedenen Menge überschüssigen $^1/_{10}$-Normalalkalis versetzt und 10 Minuten am Rückflußkühler gekocht. Hierauf wird das überschüssige Alkali mit $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure zurücktitriert (Phenolphtaleïn als Indikator). Die zur Verseifung der Ester in 100 cm^3 Branntwein erforderliche Menge $^1/_{10}$-Normalalkali wird als Esterzahl bezeichnet. Man kann die Ester auch als Essigester berechnen.

12. Nachweis und Bestimmung künstlicher Süßstoffe in Likören.

Siehe im Abschnitt „Künstliche Süßstoffe“.

13. Bestimmung von Glyzerin in Likören.

Die Bestimmung von Glyzerin in Likören erfolgt nach dem Entgeisten wie in Weinen mit mehr als 2 *g* Zucker in 100 cm^3 (siehe Abschnitt „Wein“).

14. Nachweis von Bitterstoffen und scharf schmeckenden Pflanzenstoffen.

Bitterstoffe und sonstige Pflanzenstoffe sind in Branntweinen nach *Dragendorff-Kubicki*[2]) zu untersuchen.

Sind gewöhnlichen Trinkbranntweinen scharf schmeckende Stoffe zugesetzt, z. B. Paprika, Paradieskörner- oder Pfefferauszüge, so kann auch der Geschmack des Eindunstungsrückstandes zur Erkennung dienen.

15. Nachweis von Farbstoffen.

Als Farbstoffe für Branntweine kommen hauptsächlich Karamel (gebrannter Zucker) und andere braungelbe Farbstoffe in Betracht:

---

[1]) Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Bd. **10**. S. 88 (1887).

[2]) Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. **13**. S. 67 (1874).

Liköre sind auch anders (rot, gelb, grün usw.) gefärbt. Zum Nachweise des Karamels bedient man sich des Verfahrens von *C. Amthor*[1]) und verfährt im übrigen wie bei der Prüfung des Weines auf fremde Farbstoffe (siehe Abschnitt „Wein“).

16. Bestimmung gesundheitsschädlicher Metalle (Kupfer, Zinn, Blei, Zink).

Eine abgemessene Menge Branntwein wird eingedampft und der Rückstand verascht; in der Asche werden die Metalle nach den Regeln der Mineralanalyse bestimmt. Für kleine Mengen Kupfer wird das kolorimetrische Verfahren mit Ferrozyankalium empfohlen.[2])

Bei extraktreichen Branntweinen und Likören ist die organische Substanz nach dem Eindampfen in ähnlicher Weise wie beim Mehl (siehe S. 222) zu zerstören.

17. Nachweis und Bestimmung von Blausäure.

a) Nachweis der freien Blausäure: 5 *cm*³ Branntwein werden in einem Probierröhrchen mit einigen Tropfen frisch bereiteter Guajaktinktur und 2 Tropfen stark verdünnter Kupfersulfatlösung versetzt. Bei Gegenwart von freier Blausäure färbt sich die Flüssigkeit blau.

b) Nachweis der gebundenen Blausäure: 5 *cm*³ Branntwein werden mit Alkalilauge alkalisch gemacht. Nach 3—5 Minuten wird die Flüssigkeit mit Essigsäure ganz schwach sauer gemacht und zum Nachweis der nunmehr in freiem Zustande vorhandenen Blausäure wird wie unter *a)* verfahren. Enthält ein Branntwein gleichzeitig freie und gebundene Blausäure, so führt man die Guajakkupferprobe an der gleichen Menge Branntwein mit und ohne vorhergehende Behandlung mit Alkali aus und vergleicht die Stärke der Blaufärbung. Um die Unterschiede in der Farbe besser hervortreten zu lassen, muß man mitunter den Branntwein mit Wasser verdünnen.

c) Bestimmung der freien Blausäure: 200—500 *cm*³ Branntwein werden mit einer überschüssigen Menge einer schwachen Silbernitratlösung (z. B. $^1/_{50}$-normal) versetzt, die Mischung wird zu einem bestimmten Volumen aufgefüllt und filtriert. In einem abgemessenen Teile des Filtrates wird das überschüssige Silber mit einer schwachen Rhodanammoniumlösung von bekanntem Gehalt unter Verwendung von Eisenalaun als Indikator zurücktitriert.

d) Bestimmung der gesamten Blausäure: 200—500 *cm*³ Branntwein werden mit Ammoniak stark alkalisch gemacht, sogleich mit einer überschüssigen Menge einer titrierten Silbernitratlösung versetzt und sofort mit verdünnter Salpetersäure schwach angesäuert. Man füllt die Mischung auf ein bestimmtes Volumen auf und verfährt weiter nach *c)*.

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. **24**. S. 30 (1885); vgl. *W. Fresenius*, ebendort Bd. **29**. S. 291 (1890).

[2]) *J. Nessler* und *M. Barth*, ebendort Bd. **22**. S. 37 (1883).

e) Bestimmung der an Aldehyde gebundenen Blausäure. Der Unterschied der gesamten und der freien Blausäure ergibt die Menge der an Aldehyde (Benzaldehyde) gebundenen Blausäure.

18. Nachweis von Azeton.

a) Eine Prüfung auf Azeton ist in der amtlichen Anleitung zur Untersuchung der in der Branntweinsteuerbefreiungsordnung genannten Erzeugnisse angegeben.

Die Vorbereitung der Probe für die Prüfung, sowie die Anreicherung des Azetons erfolgen in gleicher Weise wie bei der Prüfung auf Methylalkohol (S. 341). Die Prüfung selbst wird wie folgt vorgenommen: Das bei der Anreicherung erhaltene Destillat wird mit 1 *cm*³ einer 10%igen Ammoniakflüssigkeit unter Umschütteln vermischt und drei Stunden verschlossen stehen gelassen. Dann wird 1 *cm*³ einer 15%igen Natronlauge sowie 1 *cm*³ einer frisch bereiteten 2½%igen Nitroprussidnatriumlösung unter Umschütteln hinzugegeben. Bei Gegenwart von Azeton entsteht eine deutliche Rotfärbung. Setzt man tropfenweise und unter guter Kühlung vorsichtig 50%ige Essigsäure hinzu, so geht die Färbung in Violett über. Ist Azeton nicht vorhanden, so entsteht, auch bei Anwesenheit von Aldehyd, mit Nitroprussidnatrium höchstens eine goldgelbe Färbung, die auf Essigsäurezusatz verschwindet oder in ein mißfarbiges Gelb umschlägt.

Bei der Beurteilung schwacher Färbungen ist auch das natürliche Vorkommen geringer Azetonmengen in Erzeugnissen, zu deren Herstellung Stoffe aus dem Pflanzenreiche benutzt wurden, zu berücksichtigen.

b) Ein einfacheres Verfahren[1]) ist folgendes von *Klostermann*:

Zu 10 *cm*³ Branntwein werden 2 *cm*³ alkoholische Kalilauge (10%) und 1 Tropfen Benzaldehyd zugefügt, bei Gegenwart von Azeton entsteht nach eintägigem Stehen ein gelblicher, stark voluminöser Niederschlag von Dibenzolazeton. Vorübergehend entsteht anfangs eine weiße Emulsion. Sind deutliche Mengen von Azeton vorhanden, so tritt sofort eine weißlich-gelbe Trübung auf, bei geringeren Mengen erst nach einiger Zeit.

Das Dibenzolazeton hat die Formel

$$C_6H_5-CH=CH-CO-CH=CH-C_6H_5.$$

Dieses schmilzt bei 112°.

Das Zwischenprodukt hat die Formel $CH_3-CO-CH=CH-C_6H_5$ und besitzt einen niedrigeren Schmelzpunkt.

Die Reaktion gelingt in Trinkbranntwein von 20—30% Alkohol ohne weiteres, wobei Pyridinbasen und Methylalkohol nicht weiter stören. In einer Verdünnung von 1 : 5000 ließ sich das Azeton noch leicht nachweisen; das entspräche 0·02% Azeton. Nach diesem Verfahren läßt sich noch ein Zusatz von 3% denaturiertem Spiritus im Branntwein nachweisen, geringere Mengen müssen allerdings vorher angereichert werden.

Ist der Branntwein aber sehr alkohol- und extraktreich, so werden 100 *cm*³ mit etwas Schwefelsäure der Destillation unterworfen, bis 30 oder

---

[1]) Hyg. Rundschau. S. 11 (1911).

40 cm^3 überdestilliert sind. Mit dem Destillat wird, nach dem Verdünnen mit gleichen Teilen Wasser, ebenso verfahren, wie vorher angegeben worden ist.

Der Niederschlag wird abgesaugt und mit wässerigem Alkohol 1 : 9 gewaschen. Den Rückstand betupft man mit konzentrierter Schwefelsäure, wodurch eine rotviolette, und mit konzentrierter Salzsäure, wodurch eine Orangefärbung entsteht. Die Derivate des Azetons geben diese Reaktion nicht, ebensowenig die Pyridinbasen, welche zugleich mit dem Azeton im vergällten Spiritus vorkommen.

19. Prüfung auf alle Bestandteile des allgemeinen Branntweinvergällungsmittels[1]) (Denaturierungsmittel).

Da vergällter Branntwein mitunter zur Herstellung von Schnäpsen und Likören, gewöhnlich nach Entfernung des Pyridins, verwendet wird, so ist noch folgendes Verfahren ausgearbeitet worden, nach dem geprüft werden kann.

Von den Denaturierungsmitteln, die in mit denaturiertem Branntwein hergestellten Trinkbranntweinen enthalten sein können, kann nur das allgemeine Mittel in Frage kommen, wobei 100 Liter Alkohol mit 2·5 Liter eines Gemisches von vier Raumteilen Holzgeist und einem Raumteile Pyridinbasen vermischt werden.

Die folgende Anweisung nimmt daher nur auf die Hauptbestandteile dieses Mittels Rücksicht. In Ausnahmefällen können jedoch auch andere Denaturierungsmittel zu berücksichtigen sein.

Die Untersuchung der Trinkbranntweine hat sich auf folgende Punkte zu erstrecken:

1. Äußere Eigenschaften. Verhalten gegen blaues und rotes Lackmuspapier.

2. Alkoholgehalt.

3. Gehalt an Bestandteilen des allgemeinen Denaturierungsmittels (Holzgeist und Pyridinbasen).

Bei der Untersuchung eines Trinkbranntweines soll zunächst auf Azeton geprüft werden (siehe 3 *a*, α). Ferner sollen 500 cm^3 des Trinkbranntweines nach Zusatz von Schwefelsäure abdestilliert und der Rückstand zur Prüfung auf Pyridinbasen mitverwendet werden (siehe 3 *b*). Ergeben beide Prüfungen übereinstimmend die Gegenwart oder die Abwesenheit von Denaturierungsmitteln, so kann von der weiteren Untersuchung auf Methylalkohol abgesehen werden. Andernfalls ist das Destillat aus den erwähnten 500 cm^3 zur Prüfung auf Methylalkohol zu verwenden (siehe 3 *a*, β).

1. *Äußere Eigenschaften.*

Die Färbung des Trinkbranntweines ist zu berücksichtigen und zu verzeichnen. Ferner ist auf Geruch und Geschmack zu prüfen. Außerdem ist das Verhalten des Trinkbranntweines gegenüber Lackmuspapier festzustellen.

[1]) Ausgearbeitet im Kaiserl. Gesundheitsamte.

2. *Die Ermittelung des Alkoholgehaltes.*

Hierfür sind die Vorschriften für die chemische Untersuchung des Weines (siehe dort) anzuwenden.

3. *Nachweis eines Gehalts an Bestandteilen des allgemeinen Denaturierungsmittels.*

a) Nachweis des Holzgeistes.

α) *Prüfung auf Azeton.*

Zum Nachweis des Azetons werden 500 cm^3 der zu untersuchenden Probe in einem etwa 750 cm^3 fassenden Glaskolben mit 10 cm^3 Normalschwefelsäure versetzt und nach Zugabe von Siedesteinchen mittels eines einfachen Destillationsaufsatzes von etwa 20 *cm* Länge und eines absteigenden Kühlers von etwa 25 *cm* Länge auf dem Wasserbade destilliert. Für die Verbindung der Glasteile des Destillationsgerätes sind Glasschliffe anzuwenden. Als Vorlage dient ein in Kubikzentimeter geteilter Meßzylinder. Die Destillation ist zu unterbrechen, wenn die Raummenge des Destillates etwa zwei Dritteile der in den 500 cm^3 des Trinkbranntweines enthaltenen Alkoholmenge beträgt. Der Rückstand im Kolben wird zum Nachweise von Pyridinbasen verwendet (siehe II, 3 *b*).

Das etwa 100 bis 150 cm^3 betragende Destillat wird mit einigen Siedesteinchen in einen kleineren Kolben gegeben und mit Hilfe eines wirksamen, keine flüchtigen Bestandteile zurückhaltenden Fraktionieraufsatzes (z. B. des von *Vigreux* erfundenen) am absteigenden Kühler mit Vorstoß auf dem Wasserbade nochmals sorgfältig einer fraktionierten Destillation unterworfen. Auch hierbei sind zur Verbindung der Glasteile des Destillationsgerätes Glasschliffe zu verwenden. Die Fraktionierung wird in der Weise vorgenommen, daß von der langsam in Tropfen übergehenden Flüssigkeit jedesmal etwa soviel, wie die Hälfte des Kolbeninhaltes beträgt, aufgefangen und sodann aus einem anderen Kölbchen erneut mit dem gleichen Fraktionieraufsatz fraktioniert wird. Hiermit wird fortgefahren, bis man ein Destillat von etwa 25 cm^3 erhalten hat. Dieses wird schließlich nochmals fraktioniert und der erste übergehende Kubikzentimeter in einem mit Glasstopfen verschließbaren Probiergläschen gesondert aufgefangen, ebenso auch der zweite in einem anderen Probiergläschen. Dann destilliert man noch 10 cm^3 ab und verwahrt diese unter Verschluß. Zu dem Inhalte der beiden Probiergläschen wird je 1 cm^3 Ammoniakflüssigkeit von der Dichte 0·96 unter Umschütteln gegeben. Dann werden die Röhrchen verschlossen 3 Stunden beiseite gestellt. Nach Verlauf dieser Zeit wird in jedes Probiergläschen je 1 cm^3 einer 15%igen Natronlauge sowie je 1 cm^3 einer frisch bereiteten 2½%igen Nitroprussidnatriumlösung gegeben. Bei Gegenwart von Azeton entsteht in beiden oder mindestens in dem Probiergläschen, das den zuerst übergegangenen Kubikzentimeter des Destillats enthält, eine deutliche Rotfärbung, die auf tropfenweisen und unter Kühlung erfolgenden vorsichtigen Zusatz von 50%iger Essigsäure in

Violett übergeht. Ist Azeton nicht vorhanden, so entsteht, selbst bei Anwesenheit von Aldehyd, höchstens eine goldgelbe Färbung, die auf Essigsäurezusatz verschwindet oder in ein mißfarbiges Gelb umschlägt.

5) Prüfung auf Methylalkohol.

Zum Nachweis des Methylalkohols werden weitere 500 cm^3 des zu prüfenden Trinkbranntweins in der soeben beschriebenen Weise nach Zusatz von Schwefelsäure auf dem Wasserbade destilliert. Der Rückstand wird für den Nachweis des Pyridins verwendet (siehe Vorbemerkungen und unten). Das alkoholische Destillat wird wieder in der gleichen Weise der fraktionierten Destillation unterworfen. Beträgt die Menge des Destillats etwa 25 cm^3, so wird es mit der bei der Prüfung auf Azeton noch verbliebenen Endfraktion (10 cm^3) gemischt. Aus diesem Gemische wird ein Vorlauf von 10 cm^3 herausfraktioniert, und dieser wird nach dem von *K. Windisch* umgearbeiteten Verfahren nach *Riche* und *Bardig* auf Methylalkohol in folgender Weise geprüft.

Der Vorlauf wird in einem Kölbchen mit Rückflußkühler mit 15 *g* gepulvertem Jod und 2 *g* amorphem Phosphor versetzt. Nach Beendigung der heftigen Umsetzung werden die entstandenen Alkyljodide auf dem Wasserbade am absteigenden Kühler abdestilliert und in einem kleinen, 30 bis 40 cm^3 destilliertes Wasser enthaltenden Scheidetrichter aufgefangen. Die ein schweres, schwach rötliches Öl bildenden Alkyljodide werden darauf in ein etwa 100 cm^3 fassendes Kölbchen mit nicht zu weitem Hals abgelassen, in dem sich 6 cm^3 frisch destilliertes Anilin befinden. Nach dem Aufsetzen eines als Kühler dienenden langen Glasrohres erwärmt man das Kölbchen auf dem Wasserbade etwa 10 Minuten lang bis auf 50 bis 60°, wobei eine heftige Umsetzung erfolgt und der Kolbeninhalt zu einem Kristallbrei (Dimethylanilin) erstarrt. Dann fügt man etwa 30 bis 40 cm^3 siedendes Wasser hinzu und kocht nach Zugabe von Siedesteinen so lange, bis die Lösung klar geworden ist. Durch Zusatz von 20 cm^3 Natronlauge von 15% scheidet man die entstandenen Basen ab, bringt sie durch Wasserzugabe in den Hals des Kölbchens, läßt sie sich dort klären und hebt sie dann ab. Zur Oxydation der Basen dient ein Gemisch von 2 *g* Chlornatrium und 3 *g* Kupfernitrat mit 100 *g* Sand. Man verreibt diese Stoffe gleichmäßig, trocknet das Gemisch bei 50° und zerdrückt die zusammengebackten Klümpchen. 10 *g* dieses Gemisches bringt man in ein 2 *cm* weites Probierröhrchen, läßt 1 cm^3 der erhaltenen Basen darauf tropfen, mischt das Ganze mit einem Glasstabe gut durch und erhitzt 10 Stunden lang im Wasserbad auf 90°. Dann zerreibt man den eine schwarze, zusammenbackende Masse darstellenden Rohrinhalt in einer Porzellanschale, kocht ihn mit 100 cm^3 absolutem Alkohol kurz auf, filtriert durch ein Faltenfilter und löst 1 cm^3 des Filtrats in 500 cm^3 destilliertem Wasser auf. Bei Gegenwart selbst geringer Mengen von Methylalkohol ist diese Lösung deutlich violett gefärbt (Methylviolett). Reiner Äthylalkohol gibt nur eine ganz schwach rötlichgelb gefärbte Lösung. Es

sind stets mit reinem Äthylalkohol, gegebenenfalls auch mit selbst hergestellten Mischungen von Methyl- und Äthylalkohol Gegenversuche anzustellen (siehe auch S. 341).

b) Nachweis der Pyridinbasen.

Die bei der Prüfung auf Azeton und Methylalkohol erhaltenen entgeisteten sauren Rückstände werden in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade bis auf etwa 10 *cm*³ oder bei hohem Extraktgehalt bis zur Dickflüssigkeit eingeengt. Der Schaleninhalt wird mit destilliertem Wasser in ein etwa 100 bis 150 *cm*³ fassendes Rundkölbchen gespült, auf dieses ein Kugelaufsatz, wie er bei der *Kjeldahl*-Bestimmung üblich ist, aufgesetzt und an einen absteigenden Kühler angeschlossen. Das Ende des Kühlers trägt einen Vorstoß, der in ein 10 *cm*³ Normalschwefelsäure enthaltendes Porzellanschälchen hineinragt. In das Destillationskölbchen werden einige Siedesteinchen gegeben und die Lösung wird mit 20 *cm*³ Natronlauge von 15% Gehalt versetzt. Man destilliert dann unter Verwendung eines *Babo*schen Siedeblechs über freier Flamme etwa die Hälfte der Flüssigkeit ab. Nach beendeter Destillation wird der Inhalt des Porzellanschälchens auf dem Wasserbade bis auf etwa 5 *cm*³ eingeengt und nach dem Erkalten mit neutral reagierendem Kalziumkarbonat im Überschuß übersättigt, wobei die Pyridinbasen sich oft schon durch den Geruch bemerkbar machen. Der Schälcheninhalt wird, nötigenfalls unter Zugabe von wenig destilliertem Wasser, auf eine mit Filtrierpapier belegte kleine *Witt*sche Saugplatte gebracht, die sich in einem Trichter befindet. Der Trichter wird auf ein mit seitlichem Sauganstaz versehenes Probiergläschen gesetzt und mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe kräftig abgesaugt. Das etwa 3 *cm*³ betragende klare Filtrat wird in ein gewöhnliches Probiergläschen übergeführt, zunächst mit 5 bis 6 Tropfen einer 5%igen Baryumchloridlösung versetzt und der entstandene Niederschlag durch ein gehärtetes Filter abfiltriert. Das völlig klare Filtrat, welches durch Zusatz eines weiteren Tropfens Baryumchlorid nicht getrübt werden darf, wird darauf mit 1 bis 2 Tropfen einer heiß gesättigten und wieder erkalteten wässerigen Kadmiumchloridlösung versetzt. Bei Gegenwart von Pyridinbasen entsteht — oft erst nach zwei- bis dreitägigem Stehen — eine weiße kristallinische Fällung. Zur Unterscheidung von zuweilen durch andere basische Stoffe des Trinkbranntweins verursachte Fällungen bringt man eine geringe Menge des Niederschlags mit Hilfe eines Glasstabes auf einen Objektträger unter das Mikroskop. Bei etwa 100- bis 150facher Vergrößerung betrachtet, erscheinen die Kristalle des Pyridinkadmiumchlorids als spießige, oft sternförmig gruppierte Nadeln. Als weiteres Erkennungsmerkmal dient der Geruch nach Pyridinbasen, der auftritt, wenn man eine kleine Probe des Niederschlags mit einem Tropfen Natronlauge in einem verschlossenen Probiergläschen erwärmt und dann den Stopfen entfernt.

Der Nachweis der Verwendung von denaturiertem Branntwein gilt als erbracht, wenn in dem untersuchten Trinkbranntwein von den drei

vorstehend behandelten Bestandteilen des allgemeinen Denaturierungsmittels (Azeton, Methylalkohol, Pyridinbasen) mindestens zwei unzweifelhaft festgestellt worden sind.

Künstliche Süßstoffe.

Künstliche Süßstoffe sind auf künstlichem Wege gewonnene Stoffe, welche als Süßmittel dienen und eine höhere Süßkraft als Rohr- oder Rübenzucker, aber nicht den gleichen Nährwert besitzen.

Von den künstlichen Süßstoffen sind bisher für Nahrungs- und Genußmittel Saccharin, Dulzin und Gluzin verwendet worden.

A. Saccharin (Benzoësäuresulfimid).

Dieses kommt entweder als solches oder als Natriumsalz unter verschiedenen Bezeichnungen im Handel vor. Kristallose, *Monnets* Süßstoff, Saccharin, leicht lösliches Saccharin, Sykorin, Sykose, Zuckerin usw. sind derartige Benennungen.

Reines Saccharin ist ein weißes kristallinisches Pulver, welches bei 224° schmilzt und in Wasser schwer löslich ist. Es ist 500mal süßer als Rohrzucker.

Das Natriumsalz des Saccharins ist ebenfalls ein weißes Pulver, welches aber in Wasser leicht löslich ist. Durch Säuren wird das Saccharin abgeschieden; das Salz schmilzt nicht unzersetzt und ist auch nicht sublimierbar. Je nach dem Grade der Reinheit ist es 300—550mal süßer als Zucker. In Alkohol und Äther ist es im Gegensatz zum Saccharin schwer löslich, deshalb werden die Süßstoffe stets aus saurer Lösung isoliert.

Nachweis von Saccharin.

Das Saccharin wird den Nahrungsmitteln mit alkalischem Wasser entzogen, und die Lösung wird, nach dem Ansäuern mit Phosphorsäure, mit geeigneten Lösungsmitteln (Äther, Alkohol, Benzin, Äther-Petroläther) ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten des Äthers kann man schon durch den Geschmack, namentlich wenn man mit Soda neutralisiert, im Rückstande das Saccharin erkennen. Der weitere chemische Nachweis erfolgt nach Verfahren, welche am Ende dieses Kapitels angegeben werden (S. 358 u. 362).

Eine einfache Reaktion ist die folgende:

Einen Teil des Rückstandes versetzt man mit einigen Tropfen einer Mischung von 5 cm^3 Phenol und 3 cm^3 konzentrierter Schwefelsäure, erhitzt 5 Minuten lang auf 160—170°, läßt abkühlen und versetzt mit Natronlauge in geringem Überschuß. Ist Saccharin zugegen, so färbt sich die Lösung rot durch gebildetes Phenolphtaleïn. Die Reaktion ist sehr empfindlich, da 0·25 *mg* eine tiefrote, 0·1 *mg* rote und noch 0·05 *mg* eine schwachrote Färbung geben.

B. Dulzin.

Dulzin oder Paraphenetolkarbamid, $C_2H_5O.C_6H_4.NH.CO.NH_2$ wird weniger verwendet als Saccharin. Es ist ein weißes Pulver, welches in kaltem Wasser schwer, in Äther und Chloroform leicht löslich ist. In

Petroläther ist es fast unlöslich, aber löslich in einem Gemisch von Äther- und Petroläther. Dulzin schmilzt bei 173° und ist nicht unzersetzt sublimierbar; es ist etwa 400mal süßer als Rohrzucker.

Nachweis von Dulzin.

a) Nach *Jorissen*[1]) wird Dulzin mit wenig Wasser verrieben, mit 5 bis 8 Tropfen einer salpetersäurefreien Lösung von Merkurinitrat versetzt und 8—10 Minuten im siedenden Wasserbade erhitzt. Es entsteht eine schwache, violette Färbung, die auf Zusatz von geringen Mengen Bleisuperoxyds an Stärke zunimmt. (Zur Herstellung der Merkurinitratlösung werden 1—2 *g* Quecksilberoxyd in Salpetersäure gelöst, zur Lösung wird so viel Natronlauge zugesetzt, bis der entstehende Niederschlag sich nicht mehr löst; dann wird mit Wasser auf 15 *cm*³ aufgefüllt, worauf man vom Ungelösten abgießt.)

b) Berlinerblau und *Thoms*[2]) weisen Dulzin nach, indem sie den Rückstand der Ausschüttelung mit 3—4 Tropfen Phenol und ebensoviel konzentrierter Schwefelsäure schnell erhitzen und im Reagenzglas Wasser und darauf Ammoniak hinzufügen. An der Berührungsstelle der Flüssigkeiten entsteht eine blaue Zone.

c) Wird Dulzin mit wässeriger Natronlauge der Destillation unterworfen, so geht mit den Wasserdämpfen Phenetidin über, das durch Erhitzen mit Eisessig in Phenazetin übergeführt wird und als solches erkannt werden kann.

Zum Ausschütteln aus Lösungen verwendet man bei Dulzin am besten Chloroform. Man erhält es aber auch mit dem gewöhnlich verwendeten Gemisch von Äther und Petroläther.

C. Gluzin.

Gluzin ist ein nur wenig benutzter Süßstoff; es ist das Natriumsalz eines Gemisches der Mono- und Disulfosäure einer Verbindung, welche die Zusammensetzung $C_{19}H_{16}N_4$ haben soll. Es ist in heißem Wasser leicht löslich, in Äther und Chloroform dagegen unlöslich. Über 250° zersetzt es sich, ohne zu schmelzen. Es ist 300mal so süß wie Rohrzucker.

Zum Nachweis wird Gluzin in verdünnter Salzsäure gelöst; zu dieser Lösung wird unter Abkühlen eine Natriumnitritlösung zugefügt und darauf eine alkalische Lösung von α-Naphthol; ist Gluzin zugegen, so entsteht eine rote Färbung, mit Resorzin oder mit Salizylsäure in alkalischer Lösung eine hellgelbe Färbung.

Anweisung zur chemischen Untersuchung der künstlichen Süßstoffe.[3])

Die chemische Untersuchung der im Handel vorkommenden Zubereitungen (Kristalle, Pulver, Tabletten, Plätzchen usw.) künstlicher Süßstoffe hat sich zu erstrecken:

[1]) Journ. de pharm. de Liège. 3 Art. 2 und Chem.-Ztg. Bd. 20. Rep. S. 114 (1896).

[2]) Pharm. Zentralhalle. S. 280 u. 550 (1893).

[3]) Nach Anweisung des kaiserl. Gesundheitsamtes. Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel. S. 861 (1903).

Auf den Nachweis der Art und Menge des in jenen Zubereitungen enthaltenen reinen Süßstoffes.

Auf die Bestimmung des Wassers und auf den Nachweis der Art und Menge anderer Stoffe, welche dem reinen Süßstoffe zur Erhöhung seiner Löslichkeit in Wasser oder zur Herabminderung und Ausgleichung seiner Süßkraft beigemengt worden sind.

I. Nachweis der Art und Menge des reinen Süßstoffes.

Vorbemerkung. Da von den bis jetzt bekannten künstlichen Süßstoffen nur das Benzoësäuresulfinid (Saccharin) Bedeutung besitzt, so ist in vorliegender Anweisung nur diese Verbindung berücksichtigt worden. Wo daher im folgenden von Süßstoff schlechthin die Rede ist, ist darunter Saccharin zu verstehen, während die Zubereitungen des Saccharins, wie sie im Handel unter mannigfachen Namen vorkommen, als künstliche Süßstoffpräparate oder künstliche Süßstoffzubereitungen bezeichnet sind.

Wo es sich nachstehend um quantitative Bestimmungen handelt, sind die Ergebnisse auf lufttrockene Substanz zu berechnen.

1. Qualitative Prüfung auf Saccharin, $C_6H_4{<}^{CO}_{SO_2}{>}NH$.

Wenn der künstliche Süßstoff frei von Beimengungen ist, so kann man ihn unmittelbar an seinem Schmelzpunkt erkennen: Saccharin schmilzt bei 224°, in völlig reinem Zustande bei 227—228°.

Liegt der Süßstoff aber als Salz oder gemischt mit Zucker oder Parasulfaminbenzoësäure oder anderen Substanzen vor, so muß das Saccharin zunächst aus dieser Mischung abgeschieden werden. Dies geschieht, indem man das Süßstoffpräparat in Wasser oder, wenn es darin schwer löslich ist, in verdünnter Natronlauge löst; das Saccharin wird aus der Lösung durch Zusatz von verdünnten Mineralsäuren gefällt und erforderlichen Falls durch Umkristallisieren gereinigt. Alsdann wird der Schmelzpunkt des Süßstoffes bestimmt. Ergibt sich hierbei die Vermutung, daß Parasulfaminbenzoësäure anwesend ist, so ist nach 2. zu verfahren. Zur Erkennung des Saccharins dienen ferner folgende Reaktionen:

Charakteristisch für das Saccharin ist vor allem sein intensiv süßer Geschmack.

Durch Erhitzen mit Ätznatron auf 250° wird der Süßstoff in Salizylsäure übergeführt. Die Schmelze wird in Wasser gelöst, die Lösung mit Schwefelsäure angesäuert und die Salizylsäure mit Äther ausgeschüttelt, die ätherische Lösung wird verdunstet und der Rückstand in Wasser aufgenommen. Die so erhaltene Lösung gibt mit Eisenchlorid eine charakteristische violette Färbung. (Siehe auch S. 262.)

Ferner kann man den Schwefel des Saccharins durch Schmelzen mit einem Gemisch von Soda und Salpeter zu Schwefelsäure oxydieren und diese nachweisen.

2. Qualitative Prüfung auf Parasulfaminbenzoësäure.

$$C_6H_4 \begin{matrix} COOH \\ SO_2 \cdot NH_2. \end{matrix}$$

Die Parasulfaminbenzoësäure steht dem Saccharin in ihrer chemischen Zusammensetzung sehr nahe; bei der Fabrikation wird sie als Nebenprodukt gewonnen, dem aber die süßenden Eigenschaften des Saccharins vollkommen fehlen. Nur die reinsten Saccharinpräparate sind frei von Parasulfaminbenzoësäure. Auf die Gegenwart dieser Säure muß daher besonders Rücksicht genommen werden.

Wenn ein in Wasser leicht lösliches Süßstoffpräparat vorliegt, so löst man dieses in wenig Wasser auf; ist das Präparat aber in Wasser schwer löslich, so übergießt man es mit wenig Wasser und fügt tropfenweise Natronlauge hinzu, bis Lösung erfolgt ist. In beiden Fällen wird die Lösung mit Essigsäure angesäuert.

Ein sogleich oder innerhalb 24 Stunden entstehender Niederschlag wird abfiltriert, mit Wasser bis zum Verschwinden des süßen Geschmacks ausgewaschen und getrocknet. Darauf wird der Schmelzpunkt des Rückstandes bestimmt. Parasulfaminbenzoësäure schmilzt bei 288° unter Zersetzung. Aus dem Filtrat wird durch Zusatz von verdünnter Salzsäure das Saccharin abgeschieden, und wie unter 1. umkristallisiert und nachgewiesen.

Wenn sich aus der essigsäuren Lösung auch nach 24stündigem Stehen keine Kristalle ausgeschieden haben, so wird 1 *g* der künstlichen Süßstoffzubereitung mit 10 *cm*³ Salzsäure (1·124 spez. Gew.) und mit 10 *cm*³ Wasser am Rückflußkühler 1—2 Stunden erhitzt, die Lösung wird auf dem Wasserbade eingedampft der Rückstand, mit wenig heißem Wasser aufgenommen und 24 Stunden hingestellt. Wenn Parasulfaminbenzoësäure auch nur in kleiner Menge zugegen ist, so scheidet sie sich in Form glänzender Blättchen aus. Diese werden abfiltriert und, wie oben angegeben, weiter behandelt.

3. Quantitative Bestimmungen des Saccharins und anderer stickstoffhaltiger Beimengungen.

a) Bestimmung des Saccharinstickstoffes.

0·5—0·7 *g* oder bei geringerem Gehalte an reinem Süßstoff entsprechend größere Mengen werden mit 20 *cm*³ oder einer etwa 20%igen Schwefelsäure 2 Stunden mit Steigrohr zum gelinden Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten wird die Flüssigkeit mit 200 *cm*³ Wasser und mit Natronlauge im geringen Überschuß versetzt; das frei gewordene Ammoniak wird abdestilliert und in $^1/_{10}$-Normalschwefelsäure aufgefangen. Aus der gefundenen Menge Stickstoff ergibt sich durch Multiplizieren mit 13·0415 die Menge des Saccharins in der untersuchten Probe.

Dies gilt aber nur für den Fall, daß weder Ammoniumsalze noch andere Ammoniak abspaltende Stoffe vorliegen. Sind Ammoniumsalze vorhanden, so müssen sie in bekannter Weise durch Destillation mit Magnesia

bestimmt und die gefundene Stickstoffmenge muß von dem Gesamtstickstoff in Abrechnung gebracht werden.

c) Bestimmung des Gesamtstickstoffes und der Parasulfaminbenzoësäure.

Die quantitative Bestimmung der Parasulfaminbenzoësäure ist nur erforderlich, wenn durch die qualitative Prüfung die Anwesenheit dieser Säure nachgewiesen wurde.

Die Bestimmung des Gesamtstickstoffes geschieht nach dem Verfahren von *Kjeldahl*.

Wird vom Gesamtstickstoff die für Saccharin gefundene Stickstoffmenge abgezogen, so ergibt sich diejenige Menge Stickstoff, welche in Form von Parasulfaminbenzoësäure vorhanden ist. Hieraus wird durch Multiplizieren mit 14·328 die Menge der vorhandenen Parasulfaminbenzoësäure berechnet. Waren gleichzeitig Ammoniumsalze vorhanden, so ist von dem Gesamtstickstoff sowohl die Menge des Saccharinsstickstoffes, als auch die den Ammoniumsalzen entsprechende abzuziehen.

II. Bestimmung des Wassers sowie Nachweis der Art und Menge der den künstlichen Süßstoffen beigemengten anderweitigen Stoffe.

1. Bestimmung des Wassers.

0·5—1 *g* der feingepulverten Masse werden bei 105—110° bis zum gleichbleibenden Gewichte getrocknet.

Wenn die Süßstoffzubereitung aber doppeltkohlensaures Natrium enthält, so ist vorstehendes Verfahren wegen Abspaltung von Kohlensäure nicht angängig. Liegt ein besonderer Anlaß vor, in diesem Falle eine quantitative Bestimmung des Wassers vorzunehmen, so wird die Substanz in einem Rohr im Trockenofen unter Durchleiten von trockener Luft auf 105—110° erwärmt, das Wasser wird in einem Chlorkalziumrohr aufgefangen und gewogen.

2. Nachweis der Art und Menge der beigemengten anderweitigen Stoffe.

Von Stoffen, welche dem reinen künstlichen Süßstoffe zur Erhöhung seiner Löslichkeit in Wasser oder zur Herabminderung und Ausgleichung seiner Süßkraft beigemengt sein können, kommen von mineralischen Beimengungen Natriumbikarbonat, von kohlenstoffhaltigen Beimengungen hauptsächlich Stärkezucker, Milchzucker, Rohrzucker in Betracht. Außerdem kommt der Süßstoff in Form seines löslichen Natriumsalzes vor.

Soweit der Nachweis dieser Stoffe im Nachstehenden nicht besonders beschrieben ist, erfolgt er nach den allgemein üblichen Verfahren der Analyse.

a) Bestimmung mineralischer Bestandteile und Beimengungen.

1—2 *g* Substanz werden in einer gewogenen Platinschale verascht; wenn ein Rückstand von mehr als 1—2% hinterbleibt, so wird er zunächst einer qualitativen Prüfung unterworfen.

Wird Natrium in der Asche nachgewiesen, so wird eine kleine Menge des Präparates in Wasser aufgelöst. Entweicht hierbei Kohlensäure, so weist dies auf die Anwesenheit von Natriumkarbonat (Natriumbikarbonat) hin.

Wenn die qualitative Prüfung die Gegenwart von Natrium ergeben hat, so werden 0·5—1 *g* der feingepulverten Masse von neuem in einem gewogenen Platintiegel vorsichtig mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure durchfeuchtet und verascht. Aus der gefundenen Menge Natriumsulfat berechnet man durch Multiplizieren mit 0·3243 den Gehalt an Natrium. Löst sich die untersuchte Süßstoffzubereitung in kaltem Wasser leicht und ohne Entwicklung von Kohlensäure auf, so liegt das Natriumsalz des Süßstoffes vor.

b) Bestimmung kohlenstoffhaltiger Beimengungen.

Schon beim Kochen des Süßstoffes nach I, 3*a* kann man an der Bräunung der Lösung erkennen, ob kohlenstoffhaltige Beimengungen, besonders Zuckerarten, vorhanden sind. Man prüft folgendermaßen auf Zucker.

α) Qualitative Prüfung auf Zucker.

1—2 *g* der feingepulverten Masse werden in Wasser aufgelöst, wenn nötig unter Zusatz von einigen Tropfen verdünnter Natronlauge. Die Lösung wird mit *Fehling*scher Lösung versetzt und zum Sieden erhitzt. Wird die Kupferlösung reduziert, so ist ein reduzierend wirkender Zucker vorhanden, dessen Art nach den üblichen analytischen Verfahren bestimmt werden kann. Im allgemeinen kommt nur Milchzucker in Frage.

Wenn aber die *Fehling*sche Lösung nicht reduziert worden ist, so werden 1—3 *g* des künstlichen Süßstoffpräparates in 10 cm^3 Wasser gelöst und unter Zusatz von Salzsäure kurze Zeit auf dem Wasserbade erwärmt. Darauf wird die Lösung nahezu neutralisiert und mit *Fehling*scher Lösung zum Sieden erhitzt. Wird jetzt die Kupferlösung reduziert, so ist Rohrzucker nachgewiesen.

β) Quantitative Bestimmung des Zuckers.

Soll die Menge des Zuckers bestimmt werden, so wird

die quantitative Bestimmung der unmittelbar reduzierend wirkenden Zucker, wenn es sich um Stärkezucker handelt, in sinngemäßer Anwendung der „Anweisung zur chemischen Untersuchung des Weines" ausgeführt; die Bestimmung des Milchzuckers geschieht in gleicher Weise, nur wird die Kochdauer des Reduktionsgemisches auf 6 Minuten erhöht und zur Berechnung die *Soxhlet*sche Tabelle zur Bestimmung des Milchzuckers benutzt (S. 131).

Die quantitative Bestimmung des Rohrzuckers geschieht durch Polarisation in sinngemäßer Anwendung der Anlage C der Ausführungsbestimmungen zum Deutschen Zuckersteuergesetze, S. 145, 247.

Die quantitative Bestimmung von Rohrzucker neben Stärkezucker geschieht in sinngemäßer Anwendung der „Anweisung zur chemischen Untersuchung des Weines" oder n. S. 246.

Die quantitative Bestimmung von Rohrzucker neben Milchzucker geschieht in sinngemäßer Anwendung der Anlage zur Bekanntmachung des Reichskanzlers vom 8. November 1897, betreffend Änderungen der Ausführungsbestimmungen zum Deutschen Zuckersteuergesetze, S. 314.

III. Nachweis von Saccharin neben Salizylsäure und anderen Stoffen.

Ist Saccharin neben Salizylsäure vorhanden, so muß die Salizylsäure vorher mit Eisenchlorid entfernt werden. Dies geschieht nach *Mac Kay Chace* [Journ. Am. Chem. Soc. Vol. 26. p. 1627—1630 (1904)][1] nach folgender Vorschrift: 50 *cm*³ der zu untersuchenden Flüssigkeit werden mit Äther ausgeschüttelt und der Rückstand des Ätherauszuges wird mit Petroleumäther extrahiert. Der Rückstand wird mit 0·5⁰/₀iger Fe_2Cl_6-Lösung auf Salizylsäure geprüft, in 10 *cm*³ Wasser gelöst, mit 1 *cm*³ verdünnter Schwefelsäure versetzt, zum Kochen erhitzt und ein Überschuß einer 5⁰/₀igen $KMnO_4$-Lösung hinzugefügt. Bei Anwesenheit von Salizylsäure wird 1 Minute gekocht, im anderen Falle sofort zur heißen Lösung etwas NaOH hinzugefügt und nach einigen Minuten der Fe- und Mn-Niederschlag abfiltriert. Das stark alkalische Filtrat wird im Silbertiegel zur Trockene verdampft und 20 Minuten auf 210—215⁰ erhitzt. Der Rückstand wird in wenig Wasser gelöst, mit Schwefelsäure angesäuert, mit Äther extrahiert und nochmals mit Eisenchlorid auf Salizylsäure geprüft. Ein Zusatz von 10 *mg* Saccharin pro Liter kann nach dieser Methode noch mit Sicherheit erkannt werden.

Das Verfahren ermöglicht den Nachweis von Saccharin neben Salizylsäure, indem man die letztere zunächst durch Kochen mit Permanganat zerlegt und das Saccharin durch Schmelzen mit Kaliumhydrat selbst wieder in Salizylsäure überführt und als solches nachweist. Außerdem ist dies Verfahren zur Reinigung von Saccharin geeignet.

Testoni[2]) gibt weitere Verfahren an zur Bestimmung des Saccharins bei Gegenwart verschiedener Stoffe, die von Äther gelöst werden.

Bei Gegenwart von Benzoësäure:

a) Sublimation oder Destillation der Säure mit Wasserdampf.

b) Fällung des Saccharins mit Silbernitrat.

Bei Gegenwart von Wein- und Zitronensäure:

Abscheiden dieser Säuren nach bekannten Methoden, Oxydation des Restes mit Kaliumpermanganat.

Bei Gegenwart von Salizylsäure:

a) Durch Bestimmung der Salizylsäure auf maßanalytischem Wege, siehe S. 368, Überführung in Tribromphenolbrom und Ermittelung der aus Jodkalium abgespaltenen Jodmenge.

b) Entfernung der Salizylsäure mit Brom und Extraktion mit Äther.

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Ref. Bd. 9. S. 232 (1905).
[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 18. S. 577 (1909).

Bei Gegenwart von Fetten, Fruchtessenzen, Parfüm und überhaupt von ammoniak- und schwefelfreien Stoffen:

a) Oxydation mit Salpeter und Soda und Bestimmung der Schwefelsäure. Aus der Schwefelsäure wird Saccharin berechnet.

b) Verseifung mit Salzsäure und Ermittelung des Ammoniakstickstoffes, aus dem man das Saccharin berechnet. (Siehe S. 359.)

Das Saccharin wird durch Behandeln mit Salzsäure bei 150° hydrolysiert zu monosulfobenzoësaurem Ammonium

$$C_6H_4\left<{CO \atop SO_2}\right>NH + 2\,H_2O = C_6H_4\left<{COONH_4 \atop SO_3H}\right.$$

Nach dem Abkühlen wird mit Kalilage neutralisiert und nach Zusatz von überschüssiger Lauge das Ammoniak abdestilliert und bestimmt.

In Wein, Bier, kohlensauren Getränken:

Oxydation des Ätherextraktes mit Kaliumpermanganat und Extraktion des Saccharins aus der eingeengten und ausgesalzenen Flüssigkeit.

Bier.

Bier ist ein gegorenes und noch in schwacher Nachgärung befindliches Getränk, welches aus Gerstenmalz (oder Weizenmalz), Hopfen und Wasser mit Hilfe von Hefe hergestellt wird. Bei der Gärung entstehen hauptsächlich Alkohol und Kohlensäure, es bleiben aber nicht unerhebliche Mengen unvergorener Extraktstoffe zurück.

Man unterscheidet:

1. Helle und dunkle Biere, je nach der Art des verwendeten Malzes.

2. Obergärige und untergärige Biere. Obergärige Biere gären bei höherer Temperatur, die Gärung verläuft daher schnell, und die Hefe scheidet sich an der Oberfläche ab (Weißbier, Braunbier, westfälisches Altbier).

Untergärige Biere gären bei niederer Temperatur, die Gärung verläuft daher langsam, und die Hefe setzt sich am Boden des Gärbottichs ab.

3. Nach der Stärke der Stammwürze unterscheidet man stark und schwach eingebraute Biere.

4. Nach dem Grade der Vergärung unterscheidet man hoch und niedrig vergorene Biere: weinige Biere sind alkoholreich und extraktarm, vollmundige sind extraktreich und alkoholarm. Doppelbiere sind stärker als ortsüblich eingebraute, z. B. Bockbiere.

Zum Bierbrauen darf in Bayern, Württemberg und Baden allgemein nur Gerstenmalz, Wasser und Hopfen verwendet werden. Im übrigen Deutschen Reich darf für obergärige Biere auch Rohr-, Rüben-, Stärke- oder Invertzucker verwendet werden. Auch andere Malzarten sind

gestattet, nicht aber solche aus Reis oder Mais. Zu untergärigem Bier aber darf in ganz Deutschland nur Gerstenmalz, Hopfen und Wasser verwendet werden.

Gut vergorene Biere haben gewöhnlich einen Vergärungsgrad von 48% und mehr. Die Stammwürze beträgt bei untergärigen Bieren 10 bis 14%, bei obergärigen weniger. Der Stickstoffgehalt in Prozenten der Stammwürze beträgt 0·4—0·5%, der Aschengehalt selten über 0·3%. Die Gesamtsäure entspricht bei untergärigen Bieren selten mehr als 3 *cm*³ Normalalkali für 100 *g* Bier nach Entfernung der Kohlensäure. Werden weniger als 1·2 *cm*³ verbraucht, so ist das Bier vermutlich neutralisiert worden.

Der Alkoholgehalt schwankt zwischen 1·5 und 6%, der Extraktgehalt zwischen 2 und 8%.

Konservierungsmittel sind nicht statthaft. Spuren von Borsäure aus dem Hopfen und von schwefliger Säure vom Schwefeln der Fässer und des Hopfens können im Bier vorkommen.

Ersatzstoffe für Hopfen dürfen im Bier nicht enthalten sein.

Chemische Untersuchung.

1. Wesentliche Bestimmungen:

a) Spezifisches Gewicht und Extraktgehalt,
b) Alkohol (zur Berechnung der Stammwürze und des Vergärungsgrades),
c) Kohlenhydrate, Rohmaltose, vergärbare Stoffe, Dextrin,
d) Stickstoffhaltige Verbindungen,
e) Mineralbestandteile,
f) Gesamtsäure, flüchtige Säure (und Kohlensäure).

Im einzelnen Falle notwendige Bestimmungen:

a) Künstliche Süßstoffe,
b) Glyzerin,
c) Schwefelsäure, Kalk und Phosphorsäure,
d) Schweflige Säure und schwefligsaure Salze,
e) Chlor,
f) Salizylsäure,
g) Borsäure und borsaure Salze,
h) Flußsäure und ihre Verbindungen,
i) Benzoësäure,
k) Formaldehyd (Formalin),
l) Hopfenersatzstoffe (Bitterstoffe),
m) Neutralisationsmittel,
n) Teerfarbstoffe.

Vor der Untersuchung ist das Bier von Kohlensäure zu befreien, indem man es annähernd auf Zimmertemperatur bringt, einige Zeit in halbgefüllten Kolben schüttelt und dreimal filtriert. Die Bestandteile werden in Gewichtsprozenten ausgedrückt.

1. Bestimmung des spezifischen Gewichtes und des Extraktgehaltes.

Die Bestimmung des spezifischen Gewichtes geschieht in Pyknometern bei 15° oder mit der *Westphal*schen Wage.

Der wirkliche Extraktgehalt (Extraktrest) des Bieres kann durch Eindampfen von 10—20 cm^3 Bier und durch Trocknen des Rückstandes bei 105° bis zum gleichbleibenden Gewicht wegen der leichten Zersetzbarkeit des Extraktes nur annähernd bestimmt werden. Man kann zwar durch Trocknen im Wasserstoffstrom ein genaues Ergebnis erreichen, man bestimmt aber den Extraktgehalt gewöhnlich mittelbar folgendermaßen:

75 cm^3 Bier werden in einem Kölbchen genau gewogen und unter Vermeidung starken Kochens bis auf etwa 25 cm^3 eingedampft. Nach dem Erkalten wird das Extrakt mit destilliertem Wasser in das Kölbchen zurückgespült und wieder auf das ursprüngliche Gewicht gebracht. Von der Lösung wird das spezifische Gewicht bestimmt und aus der Extrakttabelle von *K. Windisch* (S. 264) der entsprechende Extraktgehalt entnommen. Manche Biere scheiden beim Eindampfen etwas Eiweiß ab; sie dürfen trotzdem nicht filtriert werden. Zur Nachprüfung dient die Bestimmung des Extraktes aus dem spezifischen Gewicht des Bieres nach Abzug des spezifischen Gewichtes des abdestillierten Alkohols (S. 266).

Bierextrakt soll mit Jodjodkalium (1 *g* Jod und 10 *g* Jodkalium im Liter) sich weder blau (Stärke), noch rötlich (Erythrodextrin) färben. Bei dunklen Bieren ist die Jodreaktion schwer zu erkennen, man verfährt dann folgendermaßen:

5 cm^3 des ursprünglichen Bieres werden in einem Reagenzglas mit 25 cm^3 Alkohol gemischt und stark geschüttelt, der Alkohol wird vom Niederschlag abgegossen, und dieser mit Alkohol nachgewaschen. Dann wird durch Eintauchen des Röhrchens in heißes Wasser der Alkohol vollends entfernt und der Rückstand in 5 cm^3 destilliertem Wasser gelöst. Zu dieser Lösung gibt man tropfenweise Jodlösung in geringem Überschuß. Die Reaktion kann auch durch Überschichten mit Jodlösung und Beobachten der Berührungszone ausgeführt werden. Letzteres Verfahren ist vorzuziehen.

2. Bestimmung des Alkoholgehaltes (Ermittelung der Stammwürze und des Vergärungsgrades).

Der Alkohol wird durch Destillation bestimmt. 75 cm^3 Bier werden gewogen und destilliert, wobei als Vorlage ein Pyknometer von 50 cm^3 Inhalt benutzt wird. Es wird nahezu bis zur Marke des Pyknometers überdestilliert, bei 15° mit Wasser aufgefüllt und gewogen. Der Alkoholgehalt des Destillates (δ) in Gewichtsprozenten wird aus der Alkoholtabelle von *K. Windisch* (s. Abschnitt: Wein) entnommen. Es ergibt sich dann der Alkoholgehalt in Prozenten (A) des Bieres aus der verwendeten Biermenge (g = Gramm), dem Gewicht des Destillates (D) und dem Alkoholgehalt des Destillates (δ):

$$A = \frac{D\delta}{g}.$$

Der Alkoholgehalt läßt sich auch mit einer für viele Zwecke genügenden Genauigkeit mittelbar feststellen, wenn die spezifischen Ge-

wichte des ursprünglichen (s) und des entgeisteten Bieres (S) bekannt sind, nach der Formel: $x = 1 + s - S$.

Aus dem Extraktgehalt (E) und dem Alkoholgehalt (A) eines Bieres kann der ursprüngliche Extraktgehalt der Würze (Stammwürze) und der wirkliche Vergärungsgrad berechnet werden.

Der ursprüngliche Extraktgehalt (e) der Würze ist

$$e = \frac{100(E + 2 \cdot 0665 A)}{100 + 1 \cdot 0665 A}.$$

Annähernd erhält man die Stammwürze durch Verdoppelung der Alkoholmenge und Hinzufügen des Extraktrestes. Die berechnete Stammwürze stimmt aber nur annähernd mit der ursprünglichen überein, weil beim Gären und Lagern stets Alkohol verdunstet.

Der wirkliche Vergärungsgrad ergibt sich nach der Formel:

$$V = 100\left(1 - \frac{E}{e}\right).$$

3. Bestimmung der Kohlenhydrate (Rohmaltose, vergärbare Stoffe, Dextrin).

Der gesamte reduzierende Zucker wird nach der Vorschrift von *Soxhlet-Wein* im Bier gewichtsanalytisch bestimmt. Das reduzierte Kupfer wird nach *Weins* Tabellen in Maltose umgerechnet (S. 130) und als Rohmaltose aufgeführt. Dieser Wert hat nur relative Bedeutung, da im Biere mehrere Zuckerarten von verschiedenem Reduktionsvermögen für Kupfer enthalten sind, und da sich auch Nichtzucker an der Reduktion beteiligen. Zur Ergänzung der Zuckerbestimmung dient der Gärversuch, bei dem sämtliche vergärbare Stoffe bestimmt werden. Die Vergärung erfolgt mit Hefe vom Typus *Frohberg*.

Soll das Dextrin besonders bestimmt werden, so geschieht dies nach den allgemeinen Untersuchungsmethoden (vgl. S. 113).

4. Bestimmung der stickstoffhaltigen Verbindungen.

Der Gesamtstickstoff wird nach *Kjeldahl* in 20—50 cm^3 Bier bestimmt. Diese werden unter Zusatz von einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure eingedampft, und der Rückstand wird in üblicher Weise aufgeschlossen. Extraktreiche Biere läßt man am besten vorher mit Hefe oder Zymase bei 25° vergären.

Den Stickstoffgehalt rechnet man durch Multiplizieren mit 6·25 auf Stickstoffsubstanz um.

5. Bestimmung der Mineralbestandteile.

Sie erfolgt in 25—50 cm^3 Bier nach den allgemeinen Untersuchungsverfahren (S. 152).

6. Bestimmung der Gesamtsäure, der flüchtigen Säure und der Kohlensäure.

a) Gesamtsäure (ausschließlich Kohlensäure). 100 cm^3 von Kohlensäure befreiten Bieres werden zur Entfernung der letzten Kohlensäurereste in offener Schale eine halbe Stunde lang auf etwa 40° erwärmt und

mit $^1/_{10}$-Normalalkalilauge titriert. Durch Tüpfeln auf Azolithminpapier oder mit einer roten Phenolphtaleïnlösung nach *Prior* wird der Neutralpunkt bestimmt. Die Säuremenge wird in Kubikzentimeter Normalalkali für 100 *g* Bier ausgedrückt. Die Phenolphtaleïnlösung nach *Prior* wird wie folgt hergestellt:

Man löst 1 Teil Phenolphtaleïn in 30 Teilen Weingeist von 90 Vol.-%. 12 Tropfen hiervon werden in 20 *cm*³ ausgekochten Wassers gebracht und mit 0·2 *cm*³ $^1/_{10}$-Normalalkalilauge rot gefärbt. Von dieser roten Flüssigkeit, welche stets frisch zu bereiten ist, wird ein Tropfen in ein Porzellannäpfchen gebracht und ein Tropfen des titrierten Bieres zugegeben; wenn die Phenolphtaleïnlösung nicht mehr entfärbt wird[1], ist der Neutralpunkt erreicht.

b) Flüchtige Säuren. Die flüchtigen Säuren werden in 100 *cm*³ Bier wie im Wein bestimmt.

c) Kohlensäure. Die Bestimmung ist nur selten notwendig, da ein kohlensäurearmes Bier schon durch den Geschmack erkannt werden kann. Sonst bestimmt man sie nach *Schwackhöfer*.

Bei Flaschenbieren wird die verkorkte Flasche mittelst eines besonderen Korkbohrers angebohrt, dessen Gewinde in einen Kanal ausläuft, welcher mit einem Absorptionsapparat in Verbindung steht. Die Flasche wird voll und leer gewogen und so das Gewicht des Inhaltes ermittelt.

Die Kohlensäure im Faßbier zu ermitteln, verwendet man ein zylindrisches Gefäß von etwa 50 *cm*³ Inhalt aus verzinntem Kupfer, welches oben zwei Messinghähne trägt, von denen der eine mit einem bis zum Boden reichenden Kupferrohr verbunden ist. Durch dieses Rohr wird Bier in das Gefäß eingelassen und sobald es gefüllt ist, werden beide Hähne geschlossen. Zum Austreiben der Kohlensäure wird das Gefäß im Wasserbad erhitzt; mit Hilfe einer Luftpumpe und eines Rückflußkühlers, der den Schaum zurückhalten soll, wird kohlensäurefreie Luft hindurchgesaugt und die Kohlensäure durch Kalilauge absorbiert. Man kann zur Probenahme auch luftleer gemachte, gewogene Glaskolben verwenden, in die das Bier vom Faß durch einen hohlen Bohrer eingelassen wird.

7. Nachweis künstlicher Süßstoffe (s. S. 356).

8. Bestimmung des Glyzerins.

Man versetzt 50 *cm*³ Bier mit 2—3 *g* Ätzkalk, dampft vorsichtig bis zum Sirup ein, setzt 10 *g* Seesand hinzu und bringt die Masse unter Umrühren zur Trockene. Der Trockenrückstand wird fein zerrieben, in eine Extraktionskapsel gebracht und am Rückflußkühler mit starkem Alkohol 8 Stunden ausgezogen. Der alkoholische Auszug wird mit 1½ Raumteilen absoluten Äthers versetzt; nach dem Absetzen wird abgegossen und filtriert. Nach Verdunstung des Ätheralkohols wird der Rückstand 1 Stunde im Dampftrockenschrank getrocknet und gewogen. In diesem Rohglyzerin ist der Zucker- und Aschegehalt zu bestimmen und in Abzug zu bringen.

[1]) Bayerisches Brauerjournal. S. 387 (1892).

In den meisten Fällen kann dies vernachlässigt werden, da die Mengen sehr gering sind.

9. Bestimmung der Schwefelsäure, des Kalkes und der Phosphorsäure.

a) Bestimmung der Schwefelsäure. 50 cm^3 Bier werden mit 3 *g* Soda und etwas Salpeter eingeäschert und in der salzsauren Lösung der Asche wird die Schwefelsäure gewichtsanalytisch bestimmt.

b) Bestimmung des Kalkes und der Phosphorsäure. Diese erfolgt nach den allgemeinen Methoden (S. 153).

10. Bestimmung der schwefligen Säure.

Die schweflige Säure wird in 200 cm^3 Bier wie im Wein bestimmt. (S. dort.)

11. Bestimmung des Chlors.

50 cm^3 Bier werden mit 3 *g* chlorfreier Soda eingedampft und verascht. In der Asche wird das Chlor nach dem allgemeinen Verfahren (S. 154) bestimmt.

12. Nachweis und Bestimmung der Salizylsäure.

Zum qualitativen Nachweis der Salizylsäure werden 100 cm^3 Bier mit Schwefelsäure angesäuert und mit Äther-Petroläther ausgeschüttelt.

Nach einiger Zeit wird die ätherische Lösung abgegossen und der Äther in einem Schälchen verdunstet. Beim Ausschütteln entsteht gewöhnlich eine Emulsion, welche sogar die Abscheidung des Äthers vollständig verhindern kann. Durch Zusatz von etwas Alkohol läßt sich dann eine Trennung der Flüssigkeiten erreichen. Der Äther wird verdunstet und der Rückstand nochmals mit Äther-Petroläther (1 + 1) aufgenommen. Die Lösung wird mit Wasser mehrfach ausgewaschen und der Äther schließlich verdunstet. Der Rückstand wird mit Wasser aufgenommen und ein Teil mit Eisenchlorid geprüft. Entsteht eine Reaktion, dann ist ein weiterer Teil mit *Millons* Reagens zu versetzen. Wenn Salizylsäure auch nur in geringsten Mengen vorhanden ist, so entsteht eine schöne rote Färbung, bleibt dagegen die Reaktion aus, dann ist Salizylsäure nicht zugegen, und die Eisenchloridreaktion weist auf die Anwesenheit von Maltol hin, falls Karamelfarbmalz[1]) verwendet worden ist.

Zur quantitativen Bestimmung der Salizylsäure darf nur mit Äther ausgeschüttelt werden, da nur dieser die Säure vollständig aufnimmt.

Ein gutes Verfahren, um Salizylsäure quantitativ zu bestimmen, ist dasjenige von *Fr. Freyer*[2]), welches darauf beruht, daß Bromwasser die Salizylsäure in Tribromphenolbrom umwandelt, welches sich mit Jodkalium unter Abspaltung von Jod umsetzt, dessen Menge titrimetrisch bestimmt werden kann.

$$C_6H_4OH\,COOH + 8\,Br = C_6H_2Br_3OBr + CO_2 + 4\,HBr.$$

$$C_6H_2Br_3OBr + 2\,KJ = C_6H_2Br_3OK + KBr + 2\,J.$$

[1]) *Brand*, Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Bd. **16**. S. 303 (1893).

[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genußm. Bd. **2**. S. 898 (1899).

Im allgemeinen gibt dies Verfahren nur gute Resultate, wenn die Salizylsäure sehr rein ist, was bei der Bestimmung in Nahrungsmitteln selten der Fall ist.

Besser benutzt man in diesen Fällen die kolorimetrische Bestimmung mit Eisenchlorid, wobei aber der Salizylsäuregehalt nicht größer als 2 *mg* sein darf, andernfalls ist entsprechend zu verdünnen oder ein aliquoter Teil zu nehmen. Bei stärkerer Konzentration ist der Farbton zu dunkel und feinere Unterschiede sind nicht mehr zu erkennen; außerdem ist die Tiefe der Färbung nicht mehr proportional der Konzentration. Als Reagens dient eine Eisenchloridlösung (ca. 30%), welche 1:500 verdünnt wird, von der 10 cm^3 zu 90 cm^3 der fraglichen Salizyllösung zugesetzt werden.

13. Nachweis von Borsäure.

Der qualitative Nachweis von Borsäure im Biere entscheidet nicht die Frage, ob Borsäure oder Borate zur Frischhaltung zugesetzt worden sind, weil nachgewiesen ist[1], daß jedes Bier geringe Mengen von Borsäure enthält, welche aus dem Hopfen stammen.

Der qualitative Nachweis von Borsäure erfolgt nach der Vorschrift, S. 159. 100 cm^3 Bier werden mit Normalkalilauge alkalisch gemacht, eingedampft und in einer Platinschale verascht. Die Asche wird mit Wasser ausgezogen und in der Lösung die Borsäure bestimmt.

Quantitativ wird die Borsäure nach *A. Jürgensen*[2] bestimmt. Borsäure ist eine so schwache Säure, daß sie auf Methylorange gar nicht, auf Phenolphtaleïn nur sehr wenig wirkt. Durch mehrwertige Alkohole wird aber der Säurecharakter, und zwar der einbasische deutlich hervorgerufen. Von diesen benutzt man jetzt allgemein das Mannit, nicht mehr wie früher das Glyzerin.

Zur Bestimmung wird zunächst das Nahrungsmittel alkalisch gemacht und verkohlt, die Kohle wird zerrieben, mit heißem Wasser ausgezogen und schließlich völlig weiß gebrannt. Die Asche wird mit Salzsäure aufgenommen und auch der wässerige Auszug wird mit Salzsäure angesäuert, beide miteinander vereinigt und auf etwa 200 cm^3 gebracht. Die Mischung wird am Rückflußkühler so lange gekocht, bis alle Kohlensäure entfernt ist; nach dem Erkalten wird genau auf 200 cm^3 aufgefüllt. 50 cm^3 werden mit $^1/_{10}$-Normalkali genau neutralisiert, wobei Phenolphtaleïn als Indikator verwendet wird. Dann fügt man 1—2 *g* Mannit hinzu und titriert wieder bis zum Neutralpunkt (Rotfärbung); setzt man etwas Äthylalkohol zu, so ist der Umschlag deutlicher.

Den Wirkungswert der Natronlauge bestimmt man mit einer wässerigen Borsäurelösung 2:1000 (kohlensäurefrei!). 50 cm^3 werden mit $^1/_{10}$-Normallauge und Phenolphtaleïn als Indikator bis zur schwachen Rotfärbung titriert, dann wird Mannit zugesetzt und wie vorher weitertitriert

[1]) Ebenda. Bd. 15. S. 426 (1892).

[2]) Zeitschr. f. angew. Chemie. S. 5 (1897); Zeitschr. f. d. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. 9. S. 641 (1905).

Hieraus ist der Wirkungswert der Lauge gegen Borsäure bestimmt. Im allgemeinen sind die gefundenen Werte nur dann genau, wenn mehr als 5 *mg* Borsäure vorliegen.

14. Nachweis und Bestimmung der Flußsäure und ihrer Verbindungen.

Man bedient sich hierzu der auf S. 163 angegebenen Verfahren.

15. Nachweis von Benzoësäure.

500 *cm*³ Bier werden mit einem geringen Überschuß von Barytwasser bis zum Sirup eingedampft, mit 50 *g* Seesand oder Gips vermischt und eingetrocknet. Der Rückstand wird nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure, mit Alkohol mehrmals ausgezogen. Der Alkohol wird, nach Zusatz von Barytwasser bis zur alkalischen Reaktion, abdestilliert, der Rückstand mit Schwefelsäure angesäuert und mit Äther ausgezogen. Im Ätherauszug ist die Benzoësäure enthalten.

Will man die Benzoësäure aus Flüssigkeiten unmittelbar ausschütteln, so säuert man mit Phosphorsäure an und schüttelt entweder mit Äther oder mit gleichen Teilen Petroläther und Benzol aus. Für quantitative Bestimmungen benutzt man am besten einen Perforierapparat, um sicher quantitative Ausbeuten zu erzielen; schneller treibt man die Säure mit Wasserdämpfen über, da sie verhältnismäßig leicht flüchtig ist.

Der qualitative Nachweis erfolgt:

a) Nach *A. Röhrig*[1]) durch Überführung in Benzoësäure-Äthyläther, welcher am Geruch erkannt wird, beim Behandeln des Rückstandes mit Äthylalkohol und konzentrierter Schwefelsäure in der Wärme. Da aber auch andere Geruchsstoffe in Nahrungsmitteln vorkommen, die durch Äther ausschüttelbar sind, so ist das Ergebnis oft unsicher.

b) Mit Ferrichlorid entsteht ein flockiger, milchiger oder gelblicher Niederschlag, der sich im Überschuß der Eisenlösung wieder auflöst, bei geringen Mengen erscheinen auch nur gelbliche Färbungen, die aber auch durch organische Säuren, Milchsäure, Bernsteinsäure hervorgerufen werden. Auch diese Prüfung ist daher bei unreinen Ausschüttelungen nicht immer sicher.

c) Die Reaktion nach *Mohler*[2]) in der verbesserten Form von *v. d. Heide*[3]) liefert dagegen gute Resultate. Es muß aber reine Benzoësäure vorliegen. Zur Reinigung wird der Ätherrückstand wieder in Äther gelöst und die Benzoësäure durch Wasser ausgeschüttelt, dem einige Kubikzentimeter Normalkalilauge zugesetzt worden sind. Diese Lösung bringt man in Schälchen, erwärmt auf dem Wasserbad und setzt soviel von einer 5%igen Permanganatlösung zu, bis die Lösung einige Minuten rotgefärbt bleibt (Zimtsäure wird in Benzoësäure überführt). Darauf versetzt man mit schwefliger Säure zur Zerstörung des überschüssigen Permanganates und säuert mit Schwefelsäure an bis aller Braunstein gelöst ist. Nun wird

[1]) Zeitschr. f. d. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. **15**. S. 29 (1908).
[2]) Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. **36**. S. 202 (1897).
[3]) Zeitschr. f. d. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. **19**. S. 141 (1910).

wieder mit Äther ausgeschüttelt und in einem Reagenzglase zur Trockene verdampft. Zum Rückstand gibt man 5 bis höchstens 10 Tropfen konzentrierte Schwefelsäure und eine Messerspitze voll Kaliumnitrat. Dann erhitzt man das Gemisch 20 Minuten im Wasserbad und läßt erkalten. Man fügt nun 1 cm^3 Wasser und Ammoniak im Überschuß hinzu, wobei sich durch Dinitrobenzoësäure die Lösung schön gelb färbt. Man kocht nun die Lösung auf, um etwa gebildetes Ammoniumnitrit zu zerstören und kühlt ab. Läßt man auf die Oberfläche einen Tropfen Schwefelammonium fließen, so entsteht ein stärkerer oder schwächerer rotbrauner Ring. Beim Schütteln färbt sich die ganze Flüssigkeit. Erwärmt man die Flüssigkeit, so muß sie sich sofort aufhellen und eine grünlich-gelbe Färbung annehmen.

d) Wohl am empfindlichsten ist die Reaktion nach *K. Fischer* und *O. Grunert*, welche die Benzoësäure durch Schmelzen mit Kalihydrat in Salizylsäure überführen. Es ist hierbei nach *Polenske*[1]) aber besonders auf die Schmelztemperatur zu achten, da bei höherer Temperatur die Reaktion auch bei größeren Mengen versagt. Der Ätherrückstand wird zunächst wieder mit Kaliumpermanganat, wie unter *c)* angegeben wurde, gereinigt und in einen Silbertiegel gebracht, welcher 2 *g* Kalihydrat enthält. $2^1/_2$ *cm* vom Boden entfernt, befindet sich eine 3 *cm* hohe Flamme eines Bunsenbrenners, so daß die Flammenspitze den Boden gerade bedeckt. Nach $^1/_2$—$^1/_1$ Minute ist das Kali geschmolzen, und man erhitzt im ganzen 3 Minuten. Der Tiegelinhalt wird nach dem Erkalten neutralisiert und auf Salizylsäure geprüft.

Die quantitative Bestimmung der Benzoësäure erfolgt nach *Polenske*[2]), indem man zunächst die Benzoësäure isoliert und mit Kaliumpermanganat reinigt, wie vorher angegeben worden ist. Den Rückstand bringt man in ein Reagenzglas und überschichtet ihn mit Seesand, bringt darüber ein rundes Blättchen Filtrierpapier, welches an den Wandungen gut anliegt. Das Reagenzglas hängt man 4 *cm* tief in ein Ölbad ein und erhitzt 4 Stunden auf 180—190°. Dann schneidet man den oberen Teil des Reagenzglases ab, spült das Sublimat mit Alkohol in ein Becherglas und titriert mit $^1/_{10}$-Normalkalilauge unter Zusatz von Phenolphtaleïn als Indikator. 1 cm^3 $^1/_{10}$-KOH = 0·0122 *g* Benzoësäure.

Nach *Genersich*[3]) kann man die Benzoësäure durch Ausschütteln mit Benzol so rein erhalten, daß man die Benzollösung ohne weiteres mit $^1/_{10}$-Normalkalilauge und Phenolphtaleïn als Indikator titrieren kann.

16. Nachweis von Formaldehyd (Formalin).

Auf Formaldehyd prüft man nach dem auf S. 160 angegebenen Verfahren.

17. Nachweis von Hopfenersatzstoffen (Bitterstoffen).

Man prüft zum Nachweis von Alkaloiden nach dem bekannten Verfahren von *Dragendorff*.

---

[1]) Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 38. S. 153 (1912).

[2]) Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 38. S. 153 (1912).

[3]) Zeitschr. f. d. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. 16. S. 225 (1908).

Nach den bisherigen Erfahrungen wird diese Prüfung nur selten Erfolg haben, da Hopfen wegen seiner besonderen Eigenschaften durch keinen anderen Stoff zu ersetzen ist. Es ist auch zu beachten, daß der Hopfenauszug ebenfalls Alkaloidreaktion gibt; aus diesem Grunde ist stets ein Vergleichsversuch mit reinem Bier anzustellen, falls die Prüfung auf Alkaloide positiv ausgefallen ist.

18. Nachweis von Neutralisationsmitteln.

Diese sind nur schwer an der Zunahme der Aschenmenge zu erkennen, und alle bisherigen Verfahren liefern bei den geringen Mengen, welche zugesetzt werden, ungenaue Ergebnisse. Das umständliche Verfahren von *Späth*[1]) ist einigermaßen brauchbar:

500 cm^3 Bier werden mit 100 cm^3 10%igem Ammoniak versetzt, 4—5 Stunden stehen gelassen und dann filtriert. Zweimal je 60 cm^3 des Filtrates werden eingedampft und verascht; in der Asche wird die Phosphorsäure nach dem Molybdänverfahren bestimmt und als primäres Phosphat umgerechnet. Ferner werden 250 cm^3 des Filtrates mit 25 cm^3 Bleiessig gemischt, geschüttelt und nach 6stündigem Absitzen filtriert. 175 cm^3 des Filtrates säuert man mit Essigsäure an und fällt mit Schwefelwasserstoff das Blei. Nachdem der Niederschlag abfiltriert und der Schwefelwasserstoff durch Einleiten von Luft ganz entfernt worden ist, werden 150 cm^3 des Filtrates eingedampft und verascht. Die Asche wird in Wasser gelöst, mit einer bestimmten Menge $^1/_{10}$-Normal-Schwefelsäure versetzt und der Überschuß mit $^1/_{10}$-Normal-Kalilauge unter Verwendung von Phenolphtaleïn als Indikator zurücktitriert. Ist der Verbrauch an $^1/_{10}$-Normalsäure für die Bierasche größer als der gefundenen Phosphorsäure entspricht, so weist dies auf Neutralisationsmittel hin. (Siehe auch S. 155.)

0·01 g P_2O_5 = 0·0191 g KH_2PO_4 = 1·4 cm^3 $^1/_{10}$-SO_3 und 1 cm^3 $^1/_{10}$-SO_3 = 0·00837 g $NaHCO_3$.

19. Nachweis von Teerfarbstoffen.

Der Nachweis von Teerfarbstoffen erfolgt in ähnlicher Weise wie bei Fleisch (S. 164).

20. Nachweis von Eosin in Bier und Würze.

1 l Bier oder Würze wird in einer Porzellanschale nach Zusatz von 10 cm^3 Ammoniak auf dem Wasserbade zur Sirupdicke eingedampft. Zu dem Rückstande werden einige Tropfen Ammoniak und unter beständigem Rühren 50—100 cm^3 Alkohol gegeben, bis sich die Extraktstoffe zusammengeballt haben und an den Schalenwandungen und dem Pistill fest haften. Dann bringt man die alkoholische Lösung in einen Schüttelzylinder und behandelt den Rückstand mit neuen Mengen Alkohol, bis die vereinigten Auszüge 500 cm^3 betragen. Nach kräftigem Durchschütteln läßt man den Zylinder stehen, bis sich die flockigen Abscheidungen am Glase abgesetzt haben und die Flüssigkeit fast klar geworden ist. Hierauf wird

[1]) Zeitschr. f. angew. Chem. S. 4 (1898).

die alkoholische Lösung filtriert und auf dem Wasserbad auf etwa 20 cm^3 eingeengt.

Diese Lösung wird nach S. 225 weiter behandelt und beurteilt.

Bestehen über die Fluoreszenz Zweifel, so ist die Prüfung mit größeren Mengen — bis zu 5 *l* — zu wiederholen.

Kaffee und Kaffee-Ersatzstoffe.

Kaffee ist der von der Fruchtschale und meistens auch von der Samenschale befreite Samen gewisser Arten der Gattung „Coffea". Die meisten Kaffees stammen von Coffea arabica und Coffea liberica.

Kaffee wird bei uns nur in geröstetem Zustande verwendet, das Rösten verändert namentlich den Rohrzucker, welcher karamelisiert wird, außerdem wird die Kaffeegerbsäure und die Rohfaser verändert und das Koffeïn zum Teil verflüchtigt.

H. Jäckle[1]) fand, daß sich beim Rösten folgende Stoffe verflüchtigen: Azeton, Furfurol, Ammoniak, Koffeïn, Trimethylamin, Ameisensäure, Essigsäure und Resorzin.

Auf Grund zahlreicher Untersuchungen hat der rohe und geröstete Kaffee folgende mittlere Zusammensetzung:

Art des Kaffees	Wasser	Proteinstoffe	Koffein	Fett und Öl (Äther-extrakt)	Rohrzucker
	Prozente				
Roh . .	11·50	12·50	1·31	12·50	8·50
Geröstet .	1·75	13·95	1·28	14·10	1·25

Art des Kaffees	Gerbsäure	Stickstofffreie Extraktstoffe	Rohfaser	Asche
	Prozente			
Roh	6·50	18·35	26·50	4·10
Geröstet	4·75	32·80	26·65	4·75

1. Prüfung auf künstliche Färbung.

Zum Färben von Kaffee werden nach *v. Raumer*[2]) hauptsächlich zum Gelbfärben Bleichromat, Mennige, Ocker, ferner Graphit, Kohle

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 1. S. 457 (1898).

[2]) Forschungsberichte über Lebensmittel. S. 333 (1896).

Talk, Indigo, Smalte, Berlinerblau und zum Grünfärben Chromoxyd verwendet.

Zur Untersuchung werden die Bohnen mit einem Sieb abgerieben und auf Mineralfarben nach dem allgemeinen Gang der Analyse geprüft; die übrigen Farben werden am besten mikroskopisch nachgewiesen.

2. Prüfung auf Überzugmittel (Fett, Paraffin, Vaselin, Glyzerin, Schellack).

Zum Nachweis der Fette werden 100—200 *g* Kaffee mit Petroläther einige Minuten ausgezogen. Man läßt den Äther verdunsten und kocht den Rückstand mit heißem Wasser aus, schüttelt nochmals mit Petroläther aus und läßt die Ätherlösung abermals verdunsten. Die Art des Fettes wird durch Bestimmung der Refraktion und der Verseifungszahl ermittelt.

Glyzerin wird im kalten, wässerigen Auszuge ermittelt, den man nach dem bei Wein angegebenen Verfahren auf Glyzerin prüfen kann.

Schellackhaltige Überzugstoffe müssen mit Alkohol abgewaschen werden.

3. Bestimmung der abwaschbaren Stoffe (Zucker, Dextrin).

Nach *Hilger*[1]) verfährt man in folgender Weise:

20 *g* unverletzte Kaffeebohnen werden in einem *Erlenmeyer*schen Kolben dreimal mit je 50 cm^3 Weingeist von 50 Vol.-% ausgezogen und zwar in der Weise, daß anfangs 1 Minute geschüttelt wird und die Bohnen dann noch 1/2 Stunde mit dem Spiritus in Berührung bleiben. Die vollkommen klar filtrierten Auszüge werden vereinigt und auf 250 cm^3 aufgefüllt. In 50 cm^3 dieses Auszuges werden, wie bei der Untersuchung des Weines, Extrakt und Asche bestimmt, welche abgezogen wird. Ein Teil des alkoholischen Auszuges kann auch zur Zuckerbestimmung verwendet werden.

4. Bestimmung der Extraktausbeute.

10 *g* gemahlenen Kaffees werden in einem Becherglase mit 200 *g* Wasser übergossen und das Gesamtgewicht wird nach Zugabe eines Glasstabes ermittelt. Unter Umrühren erhitzt man zum Kochen und läßt 5 Minuten leicht kochen. Nach dem Erkalten füllt man auf das ursprüngliche Gewicht auf, mischt gut durch und filtriert. 25—50 cm^3 des Filtrates werden auf dem Wasserbade verdampft; der Rückstand wird nach dreistündigem Trocknen im Wassertrockenschrank gewogen und auf 100 *g* Kaffee umgerechnet.

5. Bestimmung des Gesamtstickstoffes.

1—2 *g* Kaffee werden nach dem Verfahren von *Kjeldahl* verbrannt. (Siehe allgemeine Untersuchungsmethoden, S. 105.)

6. Bestimmung des Koffeïns.

a) Nach *Juckenack* und *Hilger*.[2])

20 *g* feingemahlenen Kaffees werden mit 900 *g* Wasser aufgeweicht und dann unter Ersatz des verdampfenden Wassers vollständig ausge-

[1]) Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 36. S. 226 (1897).

[2]) Forschungsberichte über Lebensmittel. Bd. 4. S. 151 (1897).

kocht, wozu bei Rohkaffee 3 Stunden, bei geröstetem Kaffee 1½ Stunden erforderlich sind.

Man läßt dann auf 60—80° erkalten, setzt 75 *g* einer Lösung von basischem Aluminiumazetat (7·5—8%) und während des Umrührens allmählich 1·9 *g* Natriumkarbonat hinzu, kocht nochmals etwa 5 Minuten und bringt das Gesamtgewicht nach dem Erkalten auf 1020 *g*. Nach dem Filtrieren werden 750 *g* des völlig klaren Filtrates, entsprechend 15 *g* Substanz, mit 10 *g* frisch gefälltem Aluminiumhydroxyd und etwas Filtrierpapierbrei unter zeitweiligem Umrühren im Wasserbade eingedampft; der Rückstand wird im Wassertrockenschrank völlig ausgetrocknet und im *Soxhlet*schen Extraktionsapparat 8—10 Stunden mit reinem Tetrachlorkohlenstoff ausgezogen. Als Siedegefäß dient zweckmäßig ein *Schott*scher Rundkolben von etwa 250 cm^3 Inhalt, der auf einer Asbestplatte erhitzt wird. Der Tetrachlorkohlenstoff bleibt völlig farblos und wird schließlich abdestilliert, worauf das zurückbleibende weiße Koffeïn im Wassertrockenschrank getrocknet und gewogen wird. Die Zahlen sind in der Regel ohne weiteres verwendbar, doch kann die Bestimmung noch durch eine Stickstoffbestimmung kontrolliert werden.

b) Verfahren von *A. Forster* und *R. Riechelmann.*[1])

20 *g* gemahlenen Kaffees werden 4mal mit Wasser ausgekocht und die Gesamtmenge wird auf 1000 cm^3 gebracht. Nach dem Filtrieren werden 600 cm^3 des Filtrates in einem Extraktionsapparat, der in der angegebenen Abhandlung abgebildet ist, mit Natronlauge bis zur alkalischen Reaktion versetzt und 10 Stunden mit Chloroform ausgezogen.

Der Chloroformauszug wird in einen *Kjeldahl*-Kolben gebracht, das Lösungsmittel abdestilliert und eine Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* ausgeführt. Aus dem Stickstoffgehalt wird durch Multiplizieren mit 3·464 das Koffeïn (wasserfrei) berechnet. (Der nach diesem Verfahren bestimmte Koffeïngehalt wird etwas zu hoch gefunden, da im Kaffee außer Koffeïn noch kleine Mengen von Theophyllin enthalten sind.)

c) K. Lendrich und *E. Nottbohm*[2]) geben das folgende zurzeit beste Verfahren an, welches mit dem von *J. Katz*[3]) kombiniert ist.

20 *g* auf 1 *mm* Korngröße gesiebten, rohen oder gerösteten Kaffees werden mit 10 cm^3 Wasser gut durchgemischt und 2 Stunden stehen gelassen, wobei man von Zeit zu Zeit wieder umrührt. Hierauf wird das feuchte Pulver in eine Extraktionshülse gebracht und 3 Stunden mit Tetrachlorkohlenstoff auf direkter Flamme ausgezogen.

Der Auszug wird mit 1 *g* Paraffin versetzt und der Tetrachlorkohlenstoff vollkommen abdestilliert; der Rückstand wird viermal mit kochend heißem Wasser ausgezogen, und zwar zuerst mit 50 cm^3, dann dreimal

[1]) Zeitschr. f. öffentl. Chem. S. 131 (1897).

[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 17. S. 249 u. Bd. 18. S. 299 (1909).

[3]) Arch. d. Pharm. S. 42 (1904).

mit 25 *cm*³. Die abgekühlten Auszüge werden durch ein angefeuchtetes Filter gegeben und dieses mit heißem Wasser nachgewaschen.

Nach dem Abkühlen werden 10 bis 30 *cm*³ einer 1%igen Permanganatlösung zugesetzt, und man läßt 1/4 Stunde einwirken. Das Mangan wird durch Zusatz einer 3%igen Lösung von Wasserstoffsuperoxyd, die in 100 *cm*³ 1 *cm*³ Eisessig enthält, als Superoxyd abgeschieden, und das Ganze wird 1/4 Stunde auf dem Wasserbade erwärmt, heiß filtriert und der Rückstand heiß ausgewaschen. Darauf wird in einer Glasschale zur Trockene verdampft, der Rückstand bei 100° getrocknet, mit heißem Chloroform aufgenommen und filtriert. Nach dem Verdunsten des Chloroforms wird das Koffeïn getrocknet und gewogen.

7. Bestimmung des Fettes.

10 *g* gemahlenen Kaffees werden 2 Stunden im Wassertrockenschrank getrocknet und im Extraktionsapparat mit Petroläther bis zur vollkommenen Erschöpfung ausgezogen. Der Auszug wird verdunstet, der Rückstand mit warmem Wasser geschüttelt, nochmals mit Petroläther aufgenommen und filtriert. Das Filtrat wird eingetrocknet und gewogen. (Das Ausziehen mit Äther, Petroläther und Benzin gibt verschiedene Zahlen.)

8. Bestimmung des Zuckers.

5 *g* gemahlenen Zuckers werden im Extraktionsapparat mit Petroläther entfettet und mit 90—95%igem Weingeist ausgezogen. Der alkoholische Auszug wird eingedunstet, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, nochmals mit Petroläther ausgeschüttelt und durch Bleiessig geklärt. Das Blei wird mit Natriumsulfat entfernt und der Zucker vor und nach der Inversion bestimmt.

9. Bestimmung des in Wasser löslichen Anteils.

Die Bestimmung wird nach *Trillich*[1]) ausgeführt. 10 g der Trockenmasse werden in einem 350 *cm*³ fassenden Becherglase mit 200 *cm*³ Wasser übergossen und mit einem Glasstabe gewogen. Zur Vermeidung des Überschäumens wird unter Umrühren zum Kochen erhitzt und 5 Minuten gekocht. Nach dem Erkalten wird mit destilliertem Wasser auf das ursprüngliche Gewicht aufgefüllt, gut durchgemischt und filtriert. 25—50 *cm*³ des Filtrates werden auf dem Wasserbade eingedampft und im Wassertrockenschranke bis zum bleibenden Gewichte getrocknet.

Tee.

Tee besteht aus den getrockneten Blattknospen und Blättern des Teestrauches (Thea chinenses) und seiner verschiedenen Spielarten. Die Blattknospe führt wegen ihrer silberglänzenden Behaarung den Namen Pecco. Man unterscheidet grünen und schwarzen Tee.

Der Tee ist grün, wenn die Blätter sofort nach dem Pflücken an der Sonne getrocknet und über Feuer schwach geröstet werden. Er wird

[1]) Forschungsber. f. Lebensmittel. S. 413 (1894).

schwarz, wenn die gepflückten Blätter 1—2 Tage lang welken und dann gerollt werden. Die noch feuchten Blätter werden dann in Schichten aufgehäuft, wodurch ein Gärungsvorgang ausgelöst wird, der die Blätter schwarz färbt und den Gehalt an Gerbstoff herabsetzt. Nach beendeter Gärung wird die Ware getrocknet.

Die Teeblätter enthalten:

Wasser, Koffeïn, Theophyllin (eine dem Theobromin isomere Base), Spuren von Xanthin, Proteïnstoffe, ätherisches Öl, Fett, Chlorophyll, Wachs, Gummi, Dextrine, Gerbsäure, Rohfaser, ferner stickstofffreie, nicht näher anzugebende organische Stoffe und Mineralstoffe.

Der Gehalt an Koffeïn- und Proteïnstoffen nimmt mit dem Alter der Blätter ab, der Gehalt an Tannin und Rohfaser dagegen zu; ebenso auch das Ätherextrakt, welches vorwiegend aus Koffeïn, Wachs und Gerbstoff besteht. Am Ende des Wachstums besteht nahezu die Hälfte des Extraktes aus Gerbstoff.

Die Stickstoffsubstanz besteht zum größten Teil (70—80%) aus Proteïnstoffen, Koffeïn (16—18%) und Amidoverbindungen (etwa 3—4%).

Teeblätter besitzen etwa die folgende Zusammensetzung:

Wasser	4—16%
Stickstoff	2·5—6%
Koffeïn	0·9—4·5%
Ätherisches Öl	0·5—1%
Fett, Chlorophyll, Wachs	1·3—15·5%
Gummi, Dextrine	0·5—10%
Gerbstoff	8—26%
Rohfaser	9·9—15·7%
Asche	3·8—8·4%
Wasserlösliche Bestandteile	24—40%

1. Bestimmung des Wassers.

Erfolgt durch Trocknen bei 100°.

2. Bestimmung der Asche.

Sie erfolgt in der üblichen Weise, wie unter den allgemeinen Untersuchungsmethoden, S. 152, angegeben worden ist.

3. Bestimmung des Koffeïns.

Zum qualitativen Nachweis von Koffeïn wird nach *Nestler*[1]) etwas Tee zwischen den Fingern verrieben und zwischen zwei Uhrgläsern über ganz kleiner Flamme erwärmt. Kühlt man dann die Außenfläche des oberen Uhrglases durch Aufbringung eines Tröpfchen kalten Wassers oder eines Stückchen Eis ab, so setzen sich an der Innenseite feine Nadeln von Koffeïn ab.

Zur Erkennung wird das Sublimat mit Chlorwasser übergossen und auf dem Wasserbade langsam bis zur Trockene eingedampft. Deckt

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. S. 289 (1901); S. 245 (1902); S. 408 (1903).

man nun ein Uhrglas darüber, welches mit einem Tropfen Ammoniak befeuchtet worden ist, so färbt sich der Rückstand rotviolett (Amalinsäurereaktion).

Zur quantitativen Bestimmung dienen folgende Verfahren:

a) Verfahren von *Juckenack* und *Hilger*.

20 *g* fein zerriebenen Tees werden mit 900 *g* Wasser bei Zimmertemperatur in einem gewogenen Becherglase einige Stunden aufgeweicht und dann vollständig ausgekocht. Die weitere Bestimmung erfolgt, wie unter Kaffee, S. 374 angegeben worden ist.

b) Verfahren von *Forster* und *Riechelmann*. Diese Bestimmung ist dieselbe wie diejenige, welche unter Kaffee, S. 375 angegeben worden ist.

c) Verfahren von *K. Lendrich* und *E. Nottbohm* (siehe Kaffee, S. 375).

4. Bestimmung des wässerigen Extraktes (nach *Krauch*[1]).

20 *g* Tee werden auf dem siedenden Wasserbade $^1/_2$ Tag lang mit 400 *cm*³ Wasser ausgezogen. Die Masse wird auf ein gewogenes Filter gebracht und so lange mit Wasser ausgewaschen, bis das Filtrat 1 *l* beträgt. Der Filterrückstand wird bei 100° getrocknet und hieraus die Extraktmenge, unter Berücksichtigung des Wassergehaltes des ursprünglichen Tees, berechnet.

5. Bestimmung des Gerbstoffes.

Sie erfolgt nach dem Verfahren von *Eder*[2]: 2 *g* Tee werden dreimal mit je 100 *cm*³ Wasser $^1/_2$—$^1/_4$ Stunde ausgekocht. Die heiß filtrierten Auszüge werden mit 20—30 *cm*³ einer 3—4%igen Lösung von kristallisiertem Kupferazetat versetzt, der entstehende Niederschlag wird auf einem Filter gesammelt und mit heißem Wasser ausgewaschen (das Filtrat muß grün gefärbt sein).

Der Niederschlag wird getrocknet, geglüht und entweder nach dem Befeuchten mit Salpetersäure durch abermaliges Glühen in Kupferoxyd oder durch Glühen mit Schwefel im Wasserstoffstrome in Kupfersulfür verwandelt. 1 *g* Kupferoxyd entspricht 1·3061 Gerbstoff. Das Verfahren ist nur ein annäherndes, es genügt aber für praktische Zwecke.

6. Prüfung auf künstliche Färbung.

Zum Auffärben von Tee dienen ähnliche Färbemittel, wie beim Kaffee angegeben worden sind; außerdem werden noch Kampecheholz, Kurkuma, Katechu u. a. angewendet; deshalb kann ein allgemeiner Gang für die Bestimmung nicht angegeben werden.

Kampecheholz und Katechu können nach *Eder* (l. c.) folgendermaßen nachgewiesen werden: 2 *g* Tee werden mit Wasser aufgekocht, das Filtrat wird mit 3 *cm*³ Bleiazetatlösung und nach dem Filtrieren mit Silbernitrat versetzt. Bei Gegenwart von Katechu entsteht ein gelbbrauner, flockiger Niederschlag, während reiner Tee nur eine schwachbraune Färbung gibt. Wird Tee mit Wasser aufgeweicht, so löst sich ein Teil des Kampechefarbstoffes schon in der Kälte und wird durch sein Verhalten gegen Kaliumchromat erkannt, womit sich der Farbstoff schwärzlich-blau färbt.

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 11, S. 277 (1878).

[2]) Zeitschr. f. anal. Chemie, S. 106 (1880).

Kakao und Schokolade.

Die Kakaobohnen sind die Samen des Kakaobaumes (Theobroma Cacao); sie liegen in einer gurkenähnlichen 10—15 *cm* langen, 5—7 *cm* dicken Frucht zu etwa 25 beisammen, in einem rötlichgelben Fruchtmus eingebettet. Die Samen werden entweder sofort an der Sonne getrocknet oder vorher in Haufen einer Gärung unterworfen und dann erst getrocknet. Durch dieses „Rotten" erhält der Kakao einen milden aromatischen Geschmack. Die Kakaobohne enthält Theobromin, Koffeïn, Fett, Proteïnstoffe, Stärke, Gerbstoff, Farbstoff, Mineralbestandteile.

Die Kakaobohnen besitzen folgende durchschnittliche Zusammensetzung:

	Rohe, ungeschälte Bohnen	Ungeschälte gebrannte Bohnen	Geschälte gebrannte Bohnen	Verknetete Kakaobohnenmasse
	Prozente			
Wasser	7·93	6·79	5·58	4·16
Stickstoffsubstanz (inklusive Theobromin)	14·19	14·13	14·13	13·97
Theobromin + Koffein	1·49	1·58	1·55	1·56
Fett	45·57	46·19	50·09	53·03
Stärke	5·85	6·06	8·77	9·02
Sonstige stickstofffreie Extrakte	17·07	18·07	13·91	12·79
Rohfaser	4·78	4·63	3·93	3·40
Asche	4·61	3·87	3·45	3·46

Zur Bereitung von Kakao werden die gerösteten Bohnen nach dem Entfernen der Keime und Schalen bei 70—80° gemahlen. Entölter Kakao ist solcher, welcher durch Auspressen von einem größeren oder geringeren Teil des Fettes befreit worden ist. Zum Aufschließen wird der Kakao mit Alkalien bei höherer Temperatur oft auch unter Druck behandelt; hierdurch wird erreicht, daß sich die unlöslichen Bestandteile beim Übergießen mit kochendem Wasser nicht so schnell zu Boden setzen.

Schokolade ist eine Mischung von Kakaomasse, Zucker und Gewürzen; besonders fettreiche Schokoladen erhalten auch einen Zusatz von Kakaobutter.

Die chemische Untersuchung erfolgt teils nach der Anleitung des Gesetzes vom 22. April 1892, teils nach anderen Verfahren, welche besonders bei eingehenderen Untersuchungen in Frage kommen.

1. Bestimmung des Wassers.

5 *g* der fein gepulverten Probe werden mit 20 *g* ausgeglühtem Seesand gemischt und bei 100—105° C getrocknet, bis keine Gewichtsabnahme mehr erfolgt. Der Gewichtsverlust wird als Wasser in Rechnung gesetzt.

2. Bestimmung der Gesamtasche und Bestimmung ihrer Alkalität.

5 *g* der Probe werden in einer ausgeglühten und gewogenen Platinschale über einer mäßig starken Flamme verkohlt. Die Kohle wird mit heißem Wasser ausgelaugt, das Ganze durch ein möglichst aschefreies Filter oder ein solches von bekanntem Aschengehalt in ein kleines Becherglas filtriert und mit möglichst wenig Wasser nachgewaschen. Das Filter mit dem Rückstande wird alsdann in der Platinschale getrocknet und vollständig verascht, bis keine Kohle mehr sichtbar ist. Zu diesem Rückstande gibt man nach dem Erkalten der Schale das erste Filtrat hinzu, dampft auf dem Wasserbad unter Zusatz von kohlensäurehaltigem Wasser ein, setzt gegen Ende des Eindampfens nochmals mit Kohlensäure gesättigtes Wasser hinzu, dampft vollends zur Trockne, erhitzt bis zur Rotglut und wägt nach dem Erkalten. Die Asche wird darauf mit 100 cm^3 heißem Wasser ausgezogen und in dem filtrierten Auszuge die Alkalität durch Titrieren mit $^1/_{10}$-Normalsäure ermittelt.

3. Bestimmung des Zuckers und Nachweis des Stärkezuckers.

Man feuchtet je das halbe Normalgewicht der auf einem Reibeisen zerkleinerten Probe in einem 100- und 200 cm^3-Kölbchen mit etwas Alkohol an und übergießt das Gemisch mit 75 cm^3 kaltem Wasser. Das Ganze bleibt unter öfterem Umschwenken ungefähr $^3/_4$ Stunden bei Zimmerwärme stehen. Alsdann füllt man genau zur Marke auf, schüttelt nochmals durch und filtriert. Die klaren Filtrate werden im 200 *mm*-Rohre polarisiert. Bedeutet x die Raummenge der unlöslichen Anteile, a die Polarisation der Lösung im 100 cm^3-Kölbchen, b diejenige im 200 cm^3-Kölbchen, so ist

$$x = 100 \frac{a - 2b}{a - b}$$

und die tatsächliche Polarisation des halben Normalgewichtes Schokolade für 100 cm^3 Lösung:

$$P = \frac{(100 - x)\,a}{100}.$$

Nach *R. Woy*[1]) wird die Bestimmung folgendermaßen ausgeführt: Je 13·024 *g*, das halbe Normalgewicht geraspelter Schokolade, werden in einem 100 cm^3 und einem 200 cm^3-Kölbchen mit Alkohol befeuchtet, mit heißem Wasser (bei stärkehaltiger Schokolade nicht über 50° C) übergossen, kräftig geschüttelt und mit 4 cm^3 Bleiessig versetzt. Nach dem Abkühlen wird bis zur Marke aufgefüllt, geschüttelt und filtriert. Die Filtrate werden im 200 *mm*-Rohr polarisiert. Berechnung:

a = Polarisation des Filtrates aus dem 100 cm^3-Kölbchen
b = „ „ „ „ „ 200 „ „
x = Volumen des unlöslichen Teiles + Bleiessigniederschlag (x ist selbstverständlich für beide Kölbchen gleich).

---

[1]) Zeitschr. f. öffentl. Chemie. S. 224 (1898).

Die im halben Normalgewicht enthaltene Zuckermenge ist im 100 *cm*³-Kölbchen gelöst in (100 — x) Kubikzentimeter, im 200 *cm*³-Kölbchen in (200 — x) Kubikzentimeter. Zu vollen 100 *cm*³ gelöst würde erstere Flüssigkeit $\frac{a(100 - x)}{100}$ und letztere, ebenfalls zu vollen 200 *cm*³ gebracht, $\frac{b(200 - x)}{200}$ polarisieren oder auf 100 *cm*³ berechnet $= \frac{b(200 - x)}{100}$.

Beide Polarisationen müssen gleich sein, also $a(100 - x) = b(200 - x)$.

Es sei die Polarisation der Flüssigkeit des 100 *cm*³-Kölbchens = 26·9° und des 200 *cm*³-Kölbchens = 13·0°. Dann ist $26·9(100 - x) = 13·0(200 - x)$, oder $2690 - 26·9\,x = 2600 - 13\,x$, oder $x = 6·47$ *cm*³. Das ist das Volumen des im Wasser unlöslichen Teiles. Man hat daher mit einem Flüssigkeitsvolumen von $100 - 6·47 = 93·53$ *cm*³ gearbeitet und dieses polarisiert

$$\frac{93·53 \times 26·9}{100} = 25·16^{0}.$$

Die Schokolade enthielt daher 50·32% Zucker.

Zur Prüfung auf Stärkezucker versetzt man einen wässerigen Auszug mit der 3fachen Menge 96%igen Alkohols.

Quantitativ wird der Gehalt an Stärkezucker durch Polarisation des invertierten Auszuges bestimmt (siehe S. 246).

4. Bestimmung und Prüfung des Fettes.

5—10 *g* der wasserfreien Probe werden mit der 4fachen Menge Seesand innig verrieben, in eine doppelte Hülse von Filtrierpapier gebracht und im *Soxhlet*schen Extraktionsapparate bis zur Erschöpfung, mindestens 10—12 Stunden lang, mit Äther ausgezogen. Darauf wird der Äther abdestilliert, der Rückstand eine Stunde im Wasserdampftrockenschranke getrocknet und nach dem Erkalten gewogen.

Für annähernde Bestimmungen genügt das Verfahren von *A. Kirschner* (Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel, Bd. 11, S. 450 [1906]), welcher sich der *Gottlieb*schen Röhre wie bei der Fettbestimmung in der Milch bedient.

a) Bestimmung des Brechungsvermögens.

Die Bestimmung des Brechungsvermögens erfolgt mit dem Butterrefraktometer (siehe S. 185).

b) Bestimmung des Schmelzpunktes.

Zur Bestimmung des Schmelzpunktes wird das geschmolzene Kakaofett in ein an beiden Enden offenes, dünnwandiges Glasröhrchen von 1/2 bis 1 *mm* Weite von U-Form aufgesaugt, so daß die Fettschicht in beiden Schenkeln gleich hoch steht. Das Glasröhrchen läßt man mindestens 24 Stunden auf Eis liegen, um das Fett völlig zum Erstarren zu bringen. Erst dann ist das Glasröhrchen mit einem geeigneten Thermometer in der

Weise durch einen dünnen Kautschukschlauch zu verbinden, daß das in dem Glasröhrchen befindliche Fett sich in gleicher Höhe wie die Quecksilberkugel des Thermometers befindet. Das Thermometer wird darauf in ein etwa 3 *cm* weites Probierröhrchen, in welchem sich die zur Erwärmung dienende Flüssigkeit (Glyzerin) befindet, hineingebracht, und die Flüssigkeit erwärmt. Das Erwärmen muß, um jedes Überhitzen zu vermeiden, sehr allmählich geschehen. Der Wärmegrad, bei welchem das Fettsäulchen vollkommen klar und durchsichtig geworden ist, gilt als Schmelzpunkt.

c) Bestimmung der Jodzahl nach *v. Hübl.*

Erforderliche Lösungen.

1. *Hübl*sche Jodlösung. Es werden einerseits 25 *g* Jod, andrerseits 30 *g* Quecksilberchlorid in je 500 *cm*³ fuselfreiem Branntwein von 95 Raumprozent gelöst, letztere Lösung, wenn nötig, filtriert und beide Lösungen getrennt aufbewahrt. Die Mischung beider Lösungen erfolgt zu gleichen Teilen und soll mindestens 48 Stunden vor dem Gebrauche stattfinden.

2. Natriumthiosulfatlösung. Sie enthält im Liter etwa 25 *g* des Salzes. Zur Titerstellung löst man 3·870 *g* wiederholt umkristallisiertes und völlig wasserfreies Kaliumbichromat zum Liter auf. Ferner gibt man 15 *cm*³ einer 10%igen Jodkaliumlösung in ein dünnwandiges Kölbchen mit eingeriebenem Glasstopfen von etwa 250 *cm*³ Raumgehalt, säuert die Lösung mit 5 *cm*³ konzentrierter Salzsäure an und verdünnt sie mit 100 *cm*³ Wasser. Unter tüchtigem Umschütteln gibt man alsdann 20 *cm*³ der Kaliumbichromatlösung hinzu. Jeder Kubikzentimeter dieser Lösung macht genau 0·01 *g* Jod frei. Man läßt nun unter Umschütteln von der Natriumthiosulfatlösung zufließen, wodurch die anfangs stark braune Lösung immer heller wird, setzt, wenn sie nur noch weingelb ist, etwas Stärkelösung hinzu und läßt unter jeweiligem kräftigen Schütteln noch so viel Natriumthiosulfatlösung vorsichtig zufließen, bis der letzte Tropfen die Blaufärbung der Jodstärke eben zum Verschwinden bringt. Die Kaliumbichromatlösung läßt sich lange unverändert aufbewahren und ist stets zur Nachprüfung des Gehaltes der Natriumthiosulfatlösung, welcher besonders im Sommer öfters neu festzustellen ist, vorrätig zu halten.

Berechnung: Da 20 *cm*³ der Kaliumbichromatlösung 0·2 *g* Jod freimachen, wird die gleiche Menge Jod von der verbrauchten Zahl Kubikzentimeter Natriumthiosulfatlösung gebunden. Daraus berechnet man, wieviel Jod 1 *cm*³ Natriumthiosulfatlösung entspricht. Die erhaltene Zahl bringt man bei allen folgenden Versuchen in Rechnung.

3. Chloroform; am besten besonders gereinigt.

4. 10%ige Jodkaliumlösung.

5. Stärkelösung. Man erhitzt 1—2 *g* löslicher Stärke mit etwas destilliertem Wasser; einige Tropfen der unfiltrierten Lösung genügen für jeden Versuch.

Ausführung der Bestimmung der Jodzahl.

Man bringt 0·8—1 *g* mit Wasser gewaschenes und geschmolzenes Kakaofett in ein Kölbchen der S. 382 beschriebenen Art, löst das Fett in 15 cm^3 Chloroform und läßt 30 cm^3 Jodlösung Nr. 1 zufließen, wobei man das Meßgefäß (Pipette oder Bürette) bei jedem Versuch in genau gleicher Weise entleert. Sollte die Flüssigkeit nach dem Umschwenken nicht völlig klar sein, so wird noch etwas Chloroform hinzugefügt. Tritt binnen kurzer Zeit fast vollständige Entfärbung der Flüssigkeit ein, so muß man noch Jodlösung zugeben. Die Jodmenge muß so groß sein, daß noch nach 3—4 Stunden die Flüssigkeit stark braun gefärbt erscheint. Nach dieser Zeit ist die Umsetzung beendet. Die Versuche sind bei 15—18° anzustellen, die Einwirkung unmittelbaren Sonnenlichtes ist zu vermeiden.

Man versetzt dann die Mischung mit 15 cm^3 Jodkaliumlösung (Nr. 4), schwenkt um und fügt 100 cm^3 Wasser hinzu. Scheidet sich hierbei ein roter Niederschlag aus, so war die zugesetzte Menge Jodkalium ungenügend, doch kann man diesen Fehler durch nachträglichen Zusatz von Jodkalium beseitigen. Man läßt nun unter oftmaligem Schütteln so lange Natriumthiosulfat zufließen, bis die wässerige Flüssigkeit und die Chloroformschicht nur mehr schwach gefärbt sind. Jetzt wird etwas Stärkelösung zugegeben und zu Ende titriert. Mit jeder Versuchsreihe ist ein sogenannter blinder Versuch, d. h. ein solcher ohne Anwendung eines Fettes zur Prüfung der Reinheit der Reagenzien (namentlich auch des Chloroforms) und zur Feststellung des Gehaltes der Jodlösung zu verbinden.

Bei der Berechnung der Jodzahl ist der für den blinden Versuch nötige Verbrauch in Abzug zu bringen. Man berechnet aus den Versuchsergebnissen, wieviel Gramm Jod in 100 *g* Kakaofett aufgenommen worden sind und erhält so die *Hübl*sche Jodzahl des Kakaofettes.

Da sich bei der Bestimmung der Jodzahl die geringsten Versuchsfehler in besonders hohem Maße geltend machen, so ist peinlich genaues Arbeiten erforderlich.

Zum Abmessen der Jod- und Thiosulfatlösungen sind genau eingeteilte Meßgefäße (Pipetten oder Büretten), und zwar für jede Lösung stets das gleiche Meßgerät zu verwenden.

d) Bestimmung der Verseifungszahl (der *Köttstorfer*schen Zahl).

Man wägt 1—2 *g* Kakaofett in einem Kölbchen aus Jenaer Glas von 150 cm^3 Raumgehalt ab, setzt 25 cm^3 einer annähernd halbnormalen alkoholischen Kalilauge hinzu und verschließt das Kölbchen mit einem durchbohrten Korke, durch dessen Öffnung ein 75 *cm* langes Kühlrohr aus Kaliglas führt. Man erhitzt die Mischung auf dem kochenden Wasserbade 15 Minuten lang zum schwachen Sieden. Um die Verseifung zu vervollständigen, ist der Kolbeninhalt durch öfteres Umschwenken, jedoch unter

Vermeidung des Verspritzens an den Kühlrohrverschluß, zu mischen. Das Ende der Verseifung ist daran zu erkennen, daß der Kolbeninhalt eine gleichmäßige, vollkommen klare Flüssigkeit darstellt, in der keine Fetttröpfchen mehr sichtbar sind. Man versetzt die vom Wasserbade genommene Lösung mit einigen Tropfen alkoholischer Phenolphtaleïnlösung und titriert die noch heiße Seifenlösung sofort mit Halbnormalsalzsäure zurück. Das Ende der Umsetzung ist scharf zu erkennen; die Flüssigkeit wird durch einen Überschuß von Säure rein gelb gefärbt.

Bei jeder Versuchsreihe sind mehrere blinde Versuche in gleicher Weise, d. h. unter 15 Minuten langer Erhitzung, aber ohne Anwendung von Fett, auszuführen, um den Wirkungswert der alkoholischen Kalilauge gegenüber der halbnormalen Salzsäure festzustellen.

Aus den Versuchsergebnissen berechnet man, wieviel Milligramm Kaliumhydroxyd erforderlich sind, um 1 *g* des Kakaofettes zu verseifen. Dies ist die Verseifungszahl oder *Köttstorfer*sche Zahl des Kakaofettes.

e) Prüfung auf die Anwesenheit von Sesamöl.

5 *cm*³ des geschmolzenen Fettes werden mit 0·1 *cm*³ einer alkoholischen Furfurollösung (1 Raumteil farbloses Furfurol in 100 Raumteilen absolutem Alkohol) gelöst und mit 10 *cm*³ Salzsäure vom spez. Gew. 1·19 mindestens ½ Minute lang kräftig geschüttelt. Wenn die am Boden sich abscheidende Salzsäure eine nicht alsbald verschwindende Rotfärbung zeigt, so ist die Gegenwart von Sesamöl nachgewiesen (S. 196).

f) Die *Björklund*sche Ätherprobe.

3 *g* Fett werden mit 6 *g* Äther in einem verschlossenen Reagenzglase auf 18° erwärmt. Bei Gegenwart von Wachs ist die Flüssigkeit getrübt. Ist die Lösung klar, so stellt man das Röhrchen in Wasser von 0° und beobachtet die Zeit, nach welcher eine Trübung eintritt. Bei Gegenwart von Rindstalg tritt bereits vor 10 Minuten eine deutliche Trübung ein, während bei reinem Kakaofett erst nach 10—15 Minuten eine Trübung zu beobachten ist. Beim Erwärmen auf 18—20° verschwindet die Trübung wieder.

g) Die *Filsinger*sche Alkoholätherprobe.

2 *g* Fett werden in einem eingeteilten Röhrchen geschmolzen, mit 6 *cm*³ einer Mischung aus 4 Teilen Äther und 1 Teil Alkohol geschüttelt und bei Zimmerwärme beiseite gestellt. Reines Kakaofett liefert eine klarbleibende Lösung.

5. Bestimmung der Stickstoffverbindungen.

1—2 *g* der Probe werden in einem etwa 600 *cm*³ fassenden Rundkolben von Kali- oder Jenaer Glas nach dem Verfahren von *Kjeldahl* so lange erhitzt, bis die Flüssigkeit auch in der Hitze farblos erscheint. Alsdann übersättigt man die Flüssigkeit nach dem Erkalten mit etwa 80 *cm*³ einer stickstofffreien Natronlauge von 1·35 spez. Gew., destilliert, fängt

das Ammoniak in einer abgemessenen überschüssigen Menge Viertelnormalschwefelsäure auf und titriert die überschüssige Schwefelsäure zurück. Durch Vervielfältigung der gefundenen Menge des Stickstoffes mit 6·25 erhält man die Menge der vorhandenen Stickstoffverbindungen (als Proteïn angesehen). (Siehe S. 104.)

6. Nachweis eines Zusatzes von stärkemehlhaltigen Stoffen und Bestimmung des Stärkemehls.

Der Nachweis fremder Stärke im Kakao und in Schokolade ist zunächst auf mikroskopischem Wege auszuführen. Zur Bestimmung ihrer Menge werden 5—10 *g* der feingepulverten Probe, welche durch Äther von Fett und durch verdünnten Weingeist (25%) von Zucker befreit ist, in einem bedeckten Fläschchen oder noch besser in einen bedeckten Zinnbecher von 150—200 cm^3 Raumgehalt mit 100 cm^3 Wasser gemengt und in einem *Soxhlet*schen Dampftopfe 3—4 Stunden lang bei 3 Atmosphären Druck erhitzt. In Ermangelung eines Dampftopfes kann man sich auch der *Reischauer-Lintner*schen Druckfläschchen bedienen, welche 8 Stunden bei 108—110° C im Glyzerinbad erhitzt werden.

Der Inhalt des Bechers oder Fläschchens wird sodann noch heiß durch einen mit Asbest gefüllten Trichter filtriert und mit siedendem Wasser ausgewaschen.

Der Rückstand darf unter dem Mikroskope keine Stärkereaktion mehr geben. Das Filtrat wird auf etwa 200 cm^3 ergänzt und mit 20 cm^3 einer Salzsäure von 1·125 spez. Gew. 3 Stunden lang am Rückflußkühler im kochenden Wasserbad erhitzt. Darauf wird rasch abgekühlt und mit soviel Natronlauge versetzt, daß die Flüssigkeit noch eben schwach sauer reagiert; dann wird auf 500 cm^3 aufgefüllt und in dieser Lösung, wenn nötig, nach dem Filtrieren die entstandene Glukose nach dem Verfahren von *Allihn* bestimmt. Die gefundene Glukosenmenge mit 0·9 vervielfältigt, ergibt die entsprechende Menge Stärke (siehe S. 124).

Will man die Glukose maßanalytisch nach *Soxhlet* bestimmen, so ist die Zuckerlösung auf eine geringere Raummenge einzuengen (siehe S. 115).

Anwendbar und einfacher in der Ausführung ist das Verfahren von *Baumert* (siehe S. 149).

7. Bestimmung der Rohfaser.

3 *g* der entfetteten Probe werden in einer Porzellanschale, welche bis zu einer im Innern angebrachten kreisförmigen Marke 200 cm^3 Flüssigkeit faßt, mit 200 cm^3 $1\frac{1}{4}$%iger Schwefelsäure (von einer Lösung, welche 50 *g* konzentrierte Schwefelsäure im Liter enthält, nimmt man 50 cm^3 und setzt 150 cm^3 Wasser hinzu) genau ½ Stunde unter Ersatz des verdampfenden Wassers gekocht, sofort durch ein dünnes Asbestfilter filtriert und mit heißem Wasser hinreichend ausgewaschen. Darauf spült man das Filter samt seinem Inhalt in die Schale zurück, gibt 50 cm^3 Kalilauge hinzu, welche 50 *g* Kalihydrat im Liter enthält, füllt bis zur Marke der Schale mit Wasser auf, kocht wiederum genau ½ Stunde unter Ersatz des verdampfenden Wassers, filtriert durch ein neues Asbestfilter oder

durch einen größeren *Gooch*schen Tiegel und wäscht mit einer reichlichen Menge kochenden Wassers und darauf nach Entfernung des Filtrates aus der Saugflasche je 2—3mal mit Alkohol und Äther nach. Das alsdann sehr bald lufttrockene Filter nebst Inhalt hebt man mittelst eines Platinspatels ab und bringt es in eine ausgeglühte Platinschale. Die dem Trichter oder der Filterplatte etwa noch anhaftenden Teilchen des Filterinhaltes bringt man mit einem Gummiwischer gleichfalls in die Platinschale. Diese wird 1 Stunde bei 100—105° getrocknet und zum Erkalten unter eine Glasglocke gestellt. Sodann wird sie so schnell wie möglich gewogen, darauf kräftig geglüht, bis kein Aufleuchten von verbrennenden Rohfaserteilchen mehr stattfindet, und nach dem Erkalten unter der Glasglocke wiederum schnell gewogen. Der Unterschied zwischen der ersten und zweiten Wägung ergibt die Menge der in 3 *g* der Probe vorhandenen Rohfaser.

Die auf diese Weise erhaltene Rohfaser enthält noch Stickstoffverbindungen (entsprechend 0·1—0·4% Stickstoff), die jedoch in der Regel nicht berücksichtigt zu werden pflegen. Sollen sie berücksichtigt werden, so ermittelt man in einem gleich behandelten Teile der Probe nach dem zweiten Filtrieren den Stickstoff durch Verbrennen nach dem Verfahren von *Kjeldahl*, vervielfältigt die Menge des Stickstoffes mit 6·25 und bringt die gefundene Menge von der Rohfaser in Abzug. Sehr stärkereiche Stoffe werden zweckmäßig vor dem Kochen mit der Säure und dem Alkali behufs Lösung der Stärke mit Malzaufguß behandelt.

Ein weiteres Verfahren, welches die reinste Rohfaser liefert, ist das von *J. König* angegebene. (Siehe allgemeine Untersuchungsverfahren, S. 151.)

8. Nachweis von Gelatine.

Gelatine erhöht den Stickstoffgehalt der Schokolade und kann daher durch Stickstoffbestimmung nach *Kjeldahl* nachgewiesen werden. (Siehe auch S. 327.)

Ferner gibt *P. Onfroy*[1]) eine einfache Reaktion an, nach der Schokolade mit Wasser (1 : 10) gekocht und mit Bleiazetat geklärt wird. Das Filtrat gibt mit konzentrierter Pikrinsäure einen gelben Niederschlag.

9. Ermittelung von Milch und Rahm in Schokolade nach *E. Baier* und *P. Neumann*.[2])

a) Bestimmung des Kaseïngehaltes: 20 *g* der fein zerriebenen Schokolade werden in einer *Soxhlet*schen Extraktionshülse während 16 Stunden mit Äther extrahiert. Von dem Ungelösten werden, nach Verdunsten des Äthers an der Luft, 10 *g* zur Bestimmung des Kaseïns verwendet. Sie werden in einem Mörser unter langsamem Zusatz einer 1%igen Natriumoxalatlösung gleichmäßig verrührt und in einen 250 cm^3-Kolben gespült, wozu etwa 200 cm^3 der Natriumoxalatlösung verbraucht werden. Dann wird der Kolben auf einem Asbestdrahtnetz unter öfterem Um-

[1]) Zeitschr. f. öffentl. Chem. S. 478 (1900).

[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 18. S. 13 (1909); vgl. auch *O. Laxa*. Bd. 7. S. 471 (1904).

schwenken erhitzt, bis der Inhalt eben ins Kochen kommt. Der Hals des Kolbens wird dabei mit einem unten zugeschmolzenen Trichter bedeckt. Schließlich fügt man bis zum Ansatz des Kolbenhalses siedend heiße Natriumoxalatlösung hinzu und läßt den Kolben unter öfterem Umschütteln bis zum anderen Tage stehen. Dann füllt man mit Natriumoxalatlösung bis zur Marke auf, schüttelt um und filtriert durch ein Faltenfilter. Zu 100 *cm*³ des Filtrates werden 5 *cm*³ einer 5⁰/₀igen Uranazetatlösung und tropfenweise unter Umrühren so lange 30⁰/₀ige Essigsäure hinzugegeben, bis ein Niederschlag entsteht (etwa 30—120 Tropfen, je nach der Kaseïnmenge). Dann wird noch ein Überschuß von etwa 5 Tropfen Essigsäure hinzugefügt und der Niederschlag trennt sich darauf schnell von der klaren Flüssigkeit. Der Niederschlag wird durch Zentrifugieren völlig abgeschieden und mit einer Lösung, die in 100 *cm*³ 5 *g* Uranazetat und 3 *cm*³ 30⁰/₀ige Essigsäure enthält, so lange ausgewaschen, bis Natriumoxalat durch Kalziumchlorid nicht mehr nachweisbar ist (etwa nach dreimaligem Zentrifugieren). Der Inhalt der Röhrchen wird mit Hilfe der Waschflüssigkeit auf ein Filter gespült, dieses nach *Kjeldahl* mit konzentrierter Schwefelsäure und Kupferoxyd zerstört und aus dem gefundenen Stickstoff durch Multiplizieren mit 6·37 das Kaseïn berechnet; unter Berücksichtigung des Fettes wird hierauf auf ursprüngliche Schokolade umgerechnet.

b) Bestimmung des Gesamtfettgehaltes der Schokolade aus der Ätherfettlösung.

c) Bestimmung der *Reichert-Meissl*-Zahl des nach *b)* gewonnenen wasserfreien Fettes.

Aus diesen drei Zahlen berechnet man mit Hilfe nachstehender Formeln die Menge des Milchfettes, die gesamte Milchtrockensubstanz, das Verhältnis des Kaseïns zu Milchfett, den Fettgehalt der zugesetzten Milch oder des Rahms und die fettfreie Milchtrockenmasse.

1. Berechnung des Milchfettes:

$$F = \frac{b\,(a - 1)}{27}.$$

F = gesuchte Milchfettmenge,
b = gefundener Gesamtfettgehalt in 100 *g* Schokolade,
a = gefundene *Reichert-Meissl*sche Zahl des Gesamtfettes.

2. Berechnung der übrigen Milchbestandteile (Gesamteiweißstoffe, Milchzucker, Mineralstoffe) zur Ermittelung der Gesamtmilchtrockensubstanz (T), K = nach *Kjeldahl* gefundenes Kaseïn in 100 *g* Schokolade:

$$\text{Gesamteiweißstoffe (E)} = K \times 1{\cdot}111.$$

$$\text{Milchzucker (M)} = \frac{K \times 1{\cdot}111 \times 13}{10}.$$

$$\text{Mineralstoffe (A)} = \frac{K \times 1{\cdot}111 \times 2{\cdot}1}{10}.$$

$$\text{Milchtrockenmasse (T)} = F + E + M + A.$$

3. Berechnung des Verhältnisses von Kaseïn zu Milchfett = Q.

$$Q = \frac{F}{K}.$$

4. Berechnung des Fettgehaltes der zugesetzten Milch oder des Rahms, durch Multiplikation des Quotienten Q mit dem durchschnittlichen Kaseïngehalt (a) des verwendeten Milchpräparates (a ist für Milch 3·15, für 10%igen Rahm 3·06 usw.).

$$X = Q \times a.$$

5. Berechnung der fettfreien Milch- oder Rahmtrockenmasse. Beide erhält man durch Subtraktion des Fettgehaltes von der Trockenmasse = (T — F).

Wein und Most von Trauben und Obst.

Most ist unvergorener oder angegorener Trauben- oder Obstsaft.

Wein ist das durch Gärung aus dem Safte der frischen Weintraube bereitete Getränk.

1. Most.

Spezifisches Gewicht: Dieses wird in süßen Mosten in der Praxis mit besonderen Mostwagen bestimmt, welche in verschiedener Weise in Grade eingeteilt sind.

1. *Oechsle* gibt die Grade 51—130 an, die dem spez. Gew. 1·051 bis 1·030 entsprechen. Der Zuckergehalt wird annähernd ermittelt, wenn man die Grade durch 4 teilt und in guten Jahren 2, in geringen 3 abzieht.

2. *Schmidt-Achert* gibt außer den *Oechsle*-Graden auch die Zuckerprozente an.

3. *v. Babo* gibt die Zuckerprozente an *(Klosterneuburger)*.

4. *Wagner* gibt an willkürliche Skala.

5. *Balling* gibt den Extraktgehalt der Moste an, zur Ermittelung des Zuckergehaltes ist von diesem eine bestimmte Menge abzuziehen.

Für die Bestimmung wird der Most vorher filtriert. Der Gehalt an Extrakt, Trockensubstanz oder Zucker ist dann aus der folgenden Tabelle zu entnehmen (S. 389).

Um den Zuckergehalt genau zu ermitteln, muß der Zucker gewichtsanalytisch nach *Meissl* bestimmt werden. In vergorenen Mosten muß zunächst der Alkohol wie in Wein ermittelt werden. Zu den *Oechsle*-Graden wird die zehnfache Menge Alkohol (Gramm in 100 cm^3) addiert und man erhält dann die ursprünglichen *Oechsle*-Grade.

Ist durch die Gärung das Gewicht schon unter 40 gesunken, so vergärt man vollständig und multipliziert den gefundenen Alkoholgehalt mit 10.

Extraktgehalt: Er wird aus dem spezifischen Gewicht nach der Tabelle S. 389 berechnet.

3. Tabelle
für verschiedene Mostwagen nach *Halenke* und *Möslinger*.

Spezifisches Gewicht	Trockensubstanz nach *Halenke* und *Möslinger* Gramm in 100 cm^3	*Oechsle*-Grade	*Klosterneuburger* Mostwage, Zucker in Prozente	*Wagners* Mostwage, *Baumé*-Grade	*Ballings* Saccharometer (Extraktprozente)
1·051	13·39	51	10·5	7·0	12·5
1·052	13·66	52	10·7	7·1	12·8
1·053	13·92	53	10·9	7·3	13·0
1·054	14·18	54	11·1	7·4	13·2
1·055	14·44	55	11·3	7·5	13·5
1·056	14·71	56	11·5	7·6	13·7
1·057	14·97	57	11·7	7·7	14·0
1·058	15·23	58	12·0	7·9	14·2
1·059	15·50	59	12·2	8·0	14·4
1·060	15·76	60	12·4	8·15	14·7
1·061	16·02	61	12·6	8·3	14·9
1·062	16·29	62	12·8	8·4	15·1
1·063	16·55	63	13·0	8·5	15·4
1·064	16·82	64	13·3	8·65	15·6
1·065	17·08	65	13·5	8·8	15·8
1·066	17·34	66	13·7	8·9	16·1
1·067	17·61	67	13·9	9·0	16·3
1·068	17·87	68	14·1	9·1	16·5
1·069	18·14	69	14·2	9·25	16·8
1·070	18·40	70	14·4	9·40	17·0
1·071	18·66	71	14·6	9·50	17·2
1·072	18·93	72	14·8	9·60	17·5
1·073	19·19	73	15·0	9·75	17·7
1·074	19·46	74	15·2	9·9	17·9
1·075	19·72	75	15·4	10·0	18·1
1·076	19·99	76	15·6	10·2	18·4
1·077	20·25	77	15·8	10·3	18·6
1·078	20·52	78	15·9	10·4	18·8
1·079	20·78	79	16·1	10·5	19·0
1·080	21·05	80	16·3	10·6	19·3
1·081	21·32	81	16·5	10·8	19·5
1·082	21·58	82	16·7	10·9	19·7
1·083	21·85	83	16·9	11·1	20·0
1·084	22·11	84	17·1	11·2	20·2
1·085	22·38	85	17·3	11·3	20·4
1·086	22·65	86	17·4	11·4	20·6
1·087	22·91	87	17·6	11·5	20·8
1·088	23·18	88	17·8	11·7	21·1
1·089	23·44	89	18·0	11·8	21·3

Spezifisches Gewicht	Trockensubstanz nach *Halenke* und *Möslinger* Gramm in 100 cm^3	*Oechsle*-Grade	*Klosterneuburger* Mostwage, Zucker in Prozente	*Wagners* Mostwage, *Baumé*-Grade	*Ballings* Saccharometer (Extraktprozente)
1·090	23·71	90	18·2	11·9	21·5
1·091	23·98	91	18·3	12·0	21·7
1·092	24·24	92	18·5	12·1	21·9
1·093	24·51	93	18·6	12·3	22·2
1·094	24·78	94	18·8	12·4	22·4
1·095	25·05	95	18·9	12·5	22·6
1·096	25·31	96	19·0	12·6	22·8
1·097	25·58	97	19·2	12·7	23·0
1·098	25·85	98	19·3	12·8	23·2
1·099	26·11	99	19·5	13·0	23·5
1·100	26·38	100	19·7	13·1	23·7
1·101	26·65	101	19·9	13·2	23·9
1·102	26·92	102	20·1	13·3	24·1
1·103	27·18	103	20·3	13·4	24·3
1·104	27·45	104	20·5	13·5	24·5
1·105	27·72	105	20·8	13·7	24·8
1·106	27·99	106	21·0	13·8	25·0
1·107	28·22	107	21·2	13·9	25·2
1·108	28·48	108	21·4	14·0	25·4
1·109	28·75	109	21·6	14·1	25·6
1·110	29·05	110	21·8	14·3	25·8
1·111		111	22·0	14·4	26·1
1·112	—	112	22·2	14·5	26·3
1·113	—	113	22·4	14·6	26·5
1·114	—	114	22·6	14·7	26·7
1·115	—	115	22·8	14·8	26·9
1·116	-	116	23·0	14·9	27·1
1·117		117	23·2	15·1	27·3
1·118		118	23·5	15·2	27·5
1·119		119	23·8	15·3	27·8
1·120		120	24·1	15·4	28·0
1·121		121	24·3	15·6	28·2
1·122	—	122	24·6	15·7	28·4
1·123		123	24·9	15·8	28·6
1·124		124	25·2	15·9	28·8
1·125	—	125	25·5	16·0	29·0
1·126	—	126	25·8	16·1	29·2
1·127	—	127	26·0	16·2	29·4
1·128		128	26·2	16·4	29·7
1·129		129	26·4	16·5	29·9
1·130	—	130	26·8	16·6	30·1

2. Bestimmung von Rohrzucker.

Zur qualitativen Prüfung auf Rohrzucker, welcher dem Moste zugesetzt sein könnte, prüft man nach *Rothenfusser.*[1] Als Reagens dient eine Mischung von 20 cm^3 5%iger Diphenylaminlösung in Alkohol, 60 cm^3 Eisessig und 120 cm^3 verdünnte Salzsäure (1 + 1).

6 *g* Baryumhydroxyd werden in 25 cm^3 heißem Wasser gelöst, die Lösung wird mit 25 cm^3 einer 3%igen Wasserstoffsuperoxydlösung (aus Perhydrol) versetzt, worauf 5 cm^3 Most hinzugegeben werden. Die Mischung wird in einer Nickel- oder Glasschale mit Ausguß (Durchmesser etwa 10 cm) auf dem Wasserbade 20 Minuten erhitzt. Sollte sich nach etwa 5 Minuten noch eine gelbe Färbung bemerkbar machen, dann gibt man tropfenweise — ein kleiner Überschuß schadet nicht — Wasserstoffsuperoxyd zu, worauf die Farbe verschwindet. Nach Ablauf von 20 Minuten filtriert man, versetzt 5 cm^3 des klaren Filtrats mit 5 cm^3 Diphenylamin-Eisessig-Salzsäure und stellt in ein kochendes Wasserbad. Ist Saccharose vorhanden, dann beginnt, je nach der Menge, nach etwa 2 Minuten die Blautönung, welche sich rasch steigert und bei einem Saccharosegehalt von 0·1—0·2% schon eine ziemlich starke Blaufärbung zeigt.

Nach 7—8 Minuten nimmt man den Reagierzylinder aus dem Wasserbade und betrachtet die Färbung gegen das Licht. Natürlicher Traubensaft läßt unter diesen Umständen keine Färbung erkennen, während saccharosehaltiger, je nach Gehalt, deutlich blau bis intensiv dunkelblau erscheint. Erhitzt man erheblich länger, dann ist auch bei einzelnen saccharosefreien Mosten eine leichte Blautönung zu bemerken, die aber nie zu Verwechslungen oder Mißdeutungen führen kann, weil die Reaktion sehr spät einsetzt und nur langsam an Stärke zunimmt. Diese leichte Tönung hat mit der Saccharosereaktion nichts zu tun. Sie wird wahrscheinlich durch Spuren von schwer abbaubaren Kohlenhydraten oder verwandter Körper verursacht.

2. Wein.

Anweisung zur chemischen Untersuchung des Weines.[2]

Zum Zwecke der Beurteilung der Weine sind die Prüfungen und Bestimmungen in der Regel auf folgende Eigenschaften und Bestandteile jeder Weinprobe zu erstrecken:

1. Spezifisches Gewicht,
2. Alkohol,
3. Extrakt,
4. Mineralbestandteile,
5. Schwefelsäure bei Rotweinen,
6. Freie Säuren (Gesamtsäure),

---

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 18. S. 135 (1909).

[2]) Nach Bekanntmachung betr. Vorschriften f. d. chem. Unters. d. Weines. Centralbl. f. d. Deutsche Reich. S. 197 (1896).

7. Flüchtige Säuren,
8. Nichtflüchtige Säuren,
9. Glyzerin,
10. Zucker,
11. Polarisation,
12. Unreinen Stärkezucker, qualitativ,
13. Fremde Farbstoffe bei Rotweinen.

Unter besonderen Verhältnissen sind die Prüfungen und Bestimmungen noch auf nachbezeichnete Bestandteile auszudehnen:

14. Gesamtweinsteinsäure, freie Weinsteinsäure, Weinstein und an alkalische Erden gebundene Weinsteinsäure,
15. Schwefelsäure bei Weißweinen,
16. Schweflige Säure,
17. Saccharin,
18. Salizylsäure, qualitativ,
19. Gummi und Dextrin, qualitativ,
20. Gerbstoff,
21. Chlor,
22. Phosphorsäure,
23. Salpetersäure, qualitativ,
24. Baryum,
25. Strontium,
26. Kupfer.

Die Ergebnisse der Untersuchungen sind in der angegebenen Reihenfolge auszuführen. Bei dem Nachweis und der Bestimmung solcher Weinbestandteile, welche hier nicht aufgeführt sind, ist stets das angewandte Untersuchungsverfahren anzugeben.

Als Normaltemperatur gilt die Temperatur von 15° C; mithin sind alle im Folgenden vorgeschriebenen Abmessungen des Weines bei dieser Temperatur vorzunehmen und die Ergebnisse hierauf zu beziehen. Trübe Weine sind vor der Untersuchung zu filtrieren; liegt ihre Temperatur unter 15° C, so sind sie vor dem Filtrieren mit den ungelösten Teilen auf 15° C zu erwärmen und umzuschütteln.

Die Mengen der Weinbestandteile werden in der Weise ausgedrückt, daß angegeben wird, wie viel Gramme des gesuchten Stoffes in 100 cm^3 Wein von 15° C gefunden worden sind.

Ausführung der Untersuchungen.

1. Bestimmung des spezifischen Gewichtes.

Das spezifische Gewicht des Weines wird mit Hilfe des Pyknometers bestimmt.

Als Pyknometer ist ein durch einen Glasstopfen verschließbares oder mit becherförmigem Aufsatz für Korkverschluß versehenes Fläschchen von etwa 50 cm^3 Inhalt mit einem 6 *cm* langen, ungefähr in der Mitte mit

einer eingeritzten Marke versehenen Halse von nicht mehr als 6 *mm* lichter Weite anzuwenden.

Das Pyknometer wird in reinem und trocknem Zustande leer gewogen, nachdem es 1/4 bis 1/2 Stunde im Wagenkasten gestanden hat. Dann wird es, gegebenenfalls mit Hilfe eines fein ausgezogenen Glockentrichters, bis über die Marke mit destilliertem Wasser gefüllt und in ein Wasserbad von 15° C gestellt. Nach halbstündigem Stehen in dem Wasserbade wird das Pyknometer herausgehoben, wobei man nur den oberen leeren Teil des Halses anfaßt, und die Oberfläche des Wassers auf die Marke eingestellt. Letzteres geschieht durch Eintauchen kleiner Stäbchen oder Streifen aus Filtrierpapier, welche das über der Marke stehende Wasser aufsaugen. Die Oberfläche des Wassers bildet in dem Halse des Pyknometers eine nach unten gekrümmte Fläche; man stellt die Flüssigkeit in dem Pyknometerhalse am besten in der Weise ein, daß bei durchfallendem Lichte der schwarze Rand der gekrümmten Oberfläche die Pyknometermarke eben berührt. Nachdem man auch den inneren Hals des Pyknometers mit Stäbchen aus Filtrierpapier gereinigt hat, setzt man den Stopfen auf, trocknet das Pyknometer äußerlich ab, stellt es 1/2 Stunde in den Wagenkasten und wägt. Die Bestimmung des Wasserinhaltes des Pyknometers ist dreimal auszuführen und aus den drei Wägungen das Mittel zu nehmen.

Nachdem man das Pyknometer entleert, getrocknet und mehrmals mit dem zu untersuchenden Weine ausgespült hat, füllt man es mit dem Weine und verfährt genau in derselben Weise wie bei der Bestimmung des Wasserinhaltes des Pyknometers; besonders ist darauf zu achten, daß die Einstellung der Flüssigkeitsoberfläche stets in derselben Weise geschieht.

Die Berechnung des spezifischen Gewichtes geschieht nach folgender Formel. Bedeutet

a das Gewicht des leeren Pyknometers,

b das Gewicht des bis zur Marke mit Wasser gefüllten Pyknometers,

c das Gewicht des bis zur Marke mit Wein gefüllten Pyknometers,

so ist das spezifische Gewicht s des Weines bei 15° C bezogen auf Wasser von derselben Temperatur:

$$s = \frac{c - a}{b - a}.$$

Die Nenner dieses Ausdrucks, das Gewicht des Wasserinhaltes des Pyknometers, ist bei allen Bestimmungen mit demselben Pyknometer gleich; wenn das Pyknometer aber längere Zeit in Gebrauch gewesen ist, müssen die Gewichte des leeren und des mit Wasser gefüllten Pyknometers von neuem bestimmt werden, da sie sich mit der Zeit nicht unerheblich ändern können.

Anmerkung. Die Berechnung wird wesentlich erleichtert, wenn man ein Pyknometer anwendet, welches bis zur Marke genau 50 *g* Wasser faßt. Das Auswägen des Pyknometers geschieht in folgender Weise. Man bestimmt das Gewicht des Pyknometers in leerem, reinem und trockenem

Zustande, wägt dann genau 50 *g* Wasser ein, stellt das Pyknometer 1 Stunde in ein Wasserbad von 15° C und ritzt an der Oberfläche der Flüssigkeit im Pyknometerhalse eine Marke ein. Das Auswägen des Pyknometers muß stets von dem Chemiker selbst ausgeführt werden. Bei Anwendung eines genau 50 *g* Wasser fassenden Pyknometers ist in der oben gegebenen Formel b — a = 50 und s = 0·02 (c — a).

2. Bestimmung des Alkohols.

Der zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes (II. Nr. 1) im Pyknometer enthaltene Wein wird in einen Destillierkolben von 150 bis 200 *cm*³ Inhalt übergeführt, und das Pyknometer dreimal mit wenig Wasser nachgespült. Man gibt zur Verhinderung des Schäumens ein wenig Tannin in den Kolben und verbindet diesen durch Gummistopfen und Kugelröhre mit einem *Liebig*schen Kühler; als Vorlage benutzt man das Pyknometer, in welchem der Wein abgemessen worden ist. Nunmehr destilliert man, bis etwa 35 *cm*³ Flüssigkeit übergegangen sind, füllt das Pyknometer mit Wasser bis nahe zum Halse auf, mischt durch quirlende Bewegung solange, bis Schichten von verschiedener Dichtigkeit nicht mehr wahrzunehmen sind, stellt die Flüssigkeit $1/2$ Stunde in ein Wasserbad von 15° C und fügt mit Hilfe eines Haarröhrchens vorsichtig Wasser von 15° C zu, bis der untere Rand der Flüssigkeitsoberfläche gerade die Marke berührt. Dann trocknet man den leeren Teil des Pyknometerhalses mit Stäbchen von Filtrierpapier, wägt und berechnet das spezifische Gewicht des Destillates in der unter Nr. 1 angegebenen Weise. Die diesem spezifischen Gewichte entsprechenden Gramme Alkohol in 100 *cm*³ Wein werden aus der zweiten Spalte der als Anlage beigegebenen Tafel I entnommen. (Siehe S. 418.)

Anmerkung: Bei der Untersuchung von Verschnittweinen ist der Alkohol in Volumprozenten nach Maßgabe der dritten Spalte der Tafel I anzugeben.

3. Bestimmung des Extraktes (Gehaltes an Extraktstoffen).

Unter Extrakt (Gesamtgehalt an Extraktstoffen) im Sinne der Bekanntmachung vom 26. April 1892 (Reichs-Gesetzbl. S. 600) sind die gelösten Bestandteile des entgeisteten ausgegorenen Weines zu verstehen.

Da das für die Bestimmung des Extraktgehaltes zu wählende Verfahren sich nach der Extraktmenge richtet, so berechnet man zunächst den Wert von x aus nachstehender Formel:

$$x = 1 + s - s_1$$

Hierbei bedeutet:

s das spezifische Gewicht des Weines (nach Nr. 1 bestimmt),

s_1 das spezifische Gewicht des alkoholischen, auf das ursprüngliche Maß aufgefüllten Destillats des Weines (nach Nr. 2 bestimmt).

Die dem Werte von x nach Maßgabe der Tafel II entsprechende Zahl E wird aus der zweiten Spalte dieser Tafel entnommen. (Siehe S. 423.)

a) Ist E **nicht größer** als 3, so wird die endgültige Bestimmung des Extraktes in folgender Weise ausgeführt. Man setzt eine gewogene Platinschale von etwa 85 *mm* Durchmesser, 20 *mm* Höhe und 75 *cm*³ Inhalt, welche ungefähr 20 *g* wiegt, auf ein Wasserbad mit lebhaft kochendem Wasser und läßt aus einer Pipette 50 *cm*³ Wein von 15° C hineinfließen. Sobald der Wein bis zur dickflüssigen Beschaffenheit eingedampft ist, setzt man die Schale mit dem Rückstande 2½ Stunden in einen Trockenkasten, zwischen dessen Doppelwandungen Wasser lebhaft siedet, läßt dann im Exsikkator erkalten und findet durch Wägung den genauen Extraktgehalt. (Siehe S. 104.)

b) Ist E **größer als 3, aber kleiner als 4**, so läßt man aus einer Bürette in die beschriebene Platinschale eine so berechnete Menge Wein fließen, daß nicht mehr als 1·5 *g* Extrakt zur Wägung gelangen, und verfährt weiter, wie unter Nr. 3 *a* angegeben.

Berechnung zu *a* und *b*. Wurden aus a Kubikzentimeter Wein, b Gramm Extrakt erhalten, so sind enthalten:

$$x = 100 \frac{a}{b} \text{ Gramm Extrakt in } 100\, cm^3 \text{ Wein.}$$

c) Ist E **gleich 4 oder größer als 4**, so gibt diese Zahl endgültig die Gramme Extrakt in 100 *cm*³ Wein an.

Um einen Wein, der seiner Benennung nach einem inländischen Weinbaugebiete entsprechen soll, nach Maßgabe der Bekanntmachung vom 29. April 1892 zu beurteilen und demgemäß den Extraktgehalt des vergorenen Weines (s. Nr. 3, Abs. 1) zu ermitteln, sind die bei der Zuckerbestimmung (vgl. Nr. 10) gefundenen Zahlen zu Hilfe zu nehmen. Beträgt danach der Zuckergehalt mehr als 0·1 *g* in 100 *cm*³ Wein, so ist die darüber hinausgehende Menge von der nach Nr. 3 *a*, 3 *b* oder 3 *c* gefundenen Extraktzahl abzuziehen. Die verbleibende Zahl entspricht dem Extraktgehalt des vergorenen Weines.

4. **Bestimmung der Mineralbestandteile.**

Enthält der Wein weniger als 4 *g* Extrakt in 100 *cm*³, so wird der nach Nr. 3 *a* oder 3 *b* erhaltene Extrakt vorsichtig verkohlt, indem man eine kleine Flamme unter der Platinschale hin- und herbewegt. Die Kohle wird mit einem dicken Platindraht zerdrückt und mit heißem Wasser wiederholt ausgewaschen; den wässerigen Auszug filtriert man durch ein kleines Filter von bekanntem geringem Aschengehalte in ein Bechergläschen. Nachdem die Kohle vollständig ausgelaugt ist, gibt man das Filterchen in die Platinschale zur Kohle, trocknet beide und verascht sie vollständig. Wenn die Asche weiß geworden ist, gießt man die filtrierte Lösung in die Platinschale zurück, verdampft zur Trockne, benetzt den Rückstand mit einer Lösung von Ammoniumkarbonat, glüht ganz schwach, läßt im Exsikkator erkalten und wägt.

Enthält der Wein 4 *g* oder mehr Extrakt im 100 *cm*³, so verdampft man 25 *cm*³ des Weines in einer geräumigen Platinschale und ver-

kohlt den Rückstand sehr vorsichtig: die stark aufgeblähte Kohle wird in der vorher beschriebenen Weise weiter behandelt.

Berechnung. Wurden aus b Kubikzentimeter Wein a Gramm Mineralbestandteile erhalten, so sind enthalten:

$$x = 100 \frac{b}{a} \text{ Mineralbestandteile in } 100\, cm^3 \text{ Wein.}$$

5. Bestimmung der Schwefelsäure in Rot- und Weißweinen.

50 cm^3 Wein werden in einem Becherglase mit Salzsäure angesäuert und auf einem Drahtnetz bis zum beginnenden Kochen erhitzt; dann fügt man heiße Chlorbaryumlösung (1 Teil kristallisiertes Chlorbaryum in 10 Teilen destilliertem Wasser gelöst) zu, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Man läßt den Niederschlag absetzen und prüft durch Zusatz eines Tropfens Chlorbaryumlösung zu der über dem Niederschlage stehenden klaren Flüssigkeit, ob die Schwefelsäure vollständig ausgefällt ist. Hierauf kocht man das Ganze nochmals auf, läßt es 6 Stunden in der Wärme stehen, gießt die klare Flüssigkeit durch ein Filter von bekanntem Aschengehalte, wäscht den im Becherglase zurückbleibenden Niederschlag wiederholt mit heißem Wasser aus, indem man jedesmal absetzen läßt und die klare Flüssigkeit durch das Filter gießt, bringt zuletzt den Niederschlag auf das Filter und wäscht so lange mit heißem Wasser, bis das Filtrat mit Silbernitrat keine Trübung mehr gibt. Filter und Niederschlag werden getrocknet, in einem gewogenen Platintiegel verascht und geglüht; hierauf befeuchtet man den Tiegelinhalt mit wenig Schwefelsäure, raucht ab, glüht schwach, läßt im Exsikkator erkalten und wägt.

Berechnung. Wurden aus 50 cm^3 Wein a Gramm Baryumsulfat erhalten, so sind enthalten:

x = 0·6869 a Gramm Schwefelsäure (SO_3) in 100 cm^3 Wein.

Diesen x Gramm Schwefelsäure (SO_3) in 100 cm^3 Wein entsprechen:

y = 14·958 a Gramm Kaliumsulfat (K_2SO_4) in 1 *l* Wein.

6. Bestimmung der freien Säuren (Gesamtsäure).

25 cm^3 Wein werden bis zum beginnenden Sieden erhitzt und die heiße Flüssigkeit mit einer Alkalilauge, welche nicht schwächer als $^1/_4$-normal ist, titriert. Wird Normallauge verwendet, so müssen Büretten von etwa 10 cm^3 Inhalt benutzt werden, welche die Abschätzung von $^1/_{100}$ cm^3 gestatten. Der Sättigungspunkt wird durch Tüpfeln auf empfindlichem violettem Lackmuspapier ermittelt; dieser Punkt ist erreicht, wenn ein auf das trockene Lackmuspapier aufgesetzter Tropfen keine Rötung mehr hervorruft. Die freien Säuren sind als Weinsteinsäuren zu berechnen.

Berechnung. Wurden zur Sättigung von 25 cm^3 Wein a Kubikzentimeter $^1/_4$-Normalalkali verbraucht, so sind enthalten:

x = 0·075 a *g* freie Säuren (Gesamtsäure), als Weinsteinsäure berechnet, in 100 cm^3 Wein.

Bei Verwendung von $^1/_3$-Normalalkali lautet die Formel:

x = 0·1 a *g* freie Säuren (Gesamtsäure), als Weinsteinsäure berechnet, in 100 cm^3 Wein.

7. Bestimmung der flüchtigen Säuren.

Man bringt 50 *cm*³ Wein in einen Rundkolben von 200 *cm*³ Inhalt und verschließt den Kolben durch einen Gummistopfen mit zwei Durchbohrungen: durch die erste Bohrung führt ein bis auf den Boden des Kolbens reichendes, dünnes, unten fein ausgezogenes, oben stumpfwinkelig umgebogenes Glasrohr, durch die zweite ein Destillationsaufsatz mit einer Kugel, welcher zu einem *Liebig*schen Kühler führt. Als Destillationsvorlage dient ein 300 *cm*³ fassender Kolben, welcher bei 200 *cm*³ Inhalt eine Marke trägt. Die flüchtigen Säuren werden mit Wasserdampf überdestilliert. Dies geschieht in der Weise, daß man das bis auf den Boden des Destillierkolbens reichende Glasrohr durch einen Gummischlauch mit einem Gefäß verbindet, in welchem ein lebhafter Strom von Wasserdampf entwickelt wird. Durch Erhitzen des Destillierkolbens mit einer Flamme engt man unter stetem Durchleiten von Wasserdampf den Wein auf etwa 25 *cm*³ ein und trägt dann durch zweckmäßiges Erwärmen des Kolbens dafür Sorge, daß die Menge der Flüssigkeit sich nicht mehr ändert. Man unterbricht die Destillation, wenn 200 *cm*³ Flüssigkeit übergegangen sind. Man versetzt das Destillat mit Phenolphtaleïn und bestimmt die Säuren mit einer titrierten Alkalilösung. Die flüchtigen Säuren sind als Essigsäure ($C_2H_4O_2$) zu berechnen.

Berechnung. Sind zur Sättigung der flüchtigen Säuren aus 50 *cm*³ Wein a Kubikzentimeter $^1/_{10}$-Normalalkali verbraucht worden, so sind enthalten:

x = 0·012 a *g* flüchtige Säuren, als Essigsäure ($C_2H_4O_2$) berechnet, in 100 *cm*³ Wein.

8. Bestimmung der nichtflüchtigen Säuren.

Die Menge der nichtflüchtigen Säuren im Wein, welche als Weinsteinsäure angegeben werden, wird durch Rechnung gefunden.

Bedeutet:

a die Gramme freie Säuren in 100 *cm*³ Wein, als Weinsteinsäure berechnet,

b die Gramme flüchtige Säuren in 100 *cm*³ Wein, als Essigsäure berechnet,

x die Gramme nichtflüchtige Säuren in 100 *cm*³ Wein, als Weinsteinsäure berechnet,

so sind enthalten:

x = (a — 1·25 b) Gramm nichtflüchtige Säuren, als Weinsteinsäure berechnet, in 100 *cm*³ Wein.

9. Bestimmung des Glyzerins.

a) In Weinen mit weniger als 2 g Zucker in 100 cm³.

Man dampft 100 *cm*³ Wein in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade auf etwa 10 *cm*³ ein, versetzt den Rückstand mit etwa 1 *g* Quarzsand und soviel Kalkmilch von 40% Kalkhydrat, daß auf je 1 *g* Extrakt 1·5 bis 2 *cm*³ Kalkmilch kommen, und verdampft fast bis zur Trockene. Der

reinigte Rückstand wird mit etwa 5 *cm*³ Alkohol von 96 Maßprozent versetzt, die an der Wand der Porzellanschale haftende Masse mit einem Spatel losgelöst und mit einem kleinen Pistill unter Zusatz kleiner Mengen Alkohol von 96 Maßprozent zu einem feinen Brei zerrieben. Spatel und Pistill werden mit Alkohol von gleichem Gehalte abgespült. Unter beständigem Umrühren erhitzt man die Schale auf dem Wasserbade bis zum Beginn des Siedens und gießt die trübe alkoholische Flüssigkeit durch einen kleinen Trichter in ein 100 *cm*³-Kölbchen. Der in der Schale zurückbleibende pulverige Rückstand wird unter Umrühren mit 10—12 *cm*³ Alkohol von 96 Maßprozent wiederum heiß ausgezogen, der Auszug in das 100 *cm*³-Kölbchen gegossen und dies Verfahren so lange wiederholt, bis die Menge der Auszüge etwa 95 *cm*³ beträgt; der unlösliche Rückstand verbleibt in der Schale. Dann spült man das auf dem 100 *cm*³-Kölbchen sitzende Trichterchen mit Alkohol ab, kühlt den alkoholischen Auszug auf 15° C ab und füllt ihn mit Alkohol von 96 Maßprozent auf 100 *cm*³ auf. Nach tüchtigem Umschütteln filtriert man den alkoholischen Auszug durch ein Faltenfilter in einen eingeteilten Glaszylinder. 90 *cm*³ Filtrat werden in eine Porzellanschale übergeführt und auf dem heißen Wasserbade unter Vermeiden des lebhaften Siedens des Alkohols eingedampft. Der Rückstand wird mit kleinen Mengen absoluten Alkohols aufgenommen, die Lösung in einen eingeteilten Glaszylinder mit Stopfen gegossen und die Schale mit kleinen Mengen absolutem Alkohol nachgewaschen, bis die alkoholische Lösung genau 15 *cm*³ beträgt. Zu der Lösung setzt man dreimal je 7·5 *cm*³ absoluten Äther und schüttelt nach jedem Zusatz tüchtig durch. Der verschlossene Zylinder bleibt so lange stehen, bis die alkoholisch-ätherische Lösung ganz klar geworden ist; hierauf gießt man die Lösung in ein Wägegläschen mit eingeschliffenem Stopfen. Nachdem man den Glaszylinder mit etwa 5 *cm*³ einer Mischung von 1 Raumteil absolutem Alkohol und 1½ Raumteilen absolutem Äther nachgewaschen und die Waschflüssigkeit ebenfalls in das Wägegläschen gegossen hat, verdunstet man die alkoholisch-ätherische Flüssigkeit auf einem heißen, aber nicht kochenden Wasserbade, wobei wallendes Sieden der Lösung zu vermeiden ist. Nachdem der Rückstand im Wägegläschen dickflüssig geworden ist, bringt man das Gläschen in einen Trockenkasten, zwischen dessen Doppelwandungen Wasser lebhaft siedet, läßt nach einstündigem Trocknen im Exsikkator erkalten und wägt.

Berechnung. Wurden a Gramm Glyzerin gewogen, so sind enthalten:

$$x = 1·111\, a\, g \text{ Glyzerin in } 100\, cm^3 \text{ Wein.}$$

b) In Weinen mit 2 g oder mehr Zucker in 100 cm³.

500 *cm*³ Wein werden in einen geräumigen Kolben auf dem Wasserbade erwärmt und mit 1 *g* Quarzsand und so lange mit kleinen Mengen Kalkmilch versetzt, bis die zuerst dunkler gewordene Mischung wieder eine hellere Farbe und einen laugenhaften Geruch angenommen hat. Das Gemisch wird auf dem Wasserbade unter fortwährendem Umschütteln erwärmt.

Nach dem Erkalten setzt man 100 cm^3 Alkohol von 96 Maßprozent zu, läßt den Niederschlag absetzen, filtriert und wäscht ihn mit Alkohol von 96 Maßprozent aus. Das Filtrat wird eingedampft und der Rückstand nach der unter Nr. 9a gegebenen Vorschrift weiter behandelt.

Berechnung. Wurden a Gramm Glyzerin gewogen, so sind enthalten:

$$x = 2{\cdot}222\ a \text{ Glyzerin in } 100\ cm^3 \text{ Wein.}$$

Anmerkung. Wenn die Ergebnisse der Zuckerbestimmung nicht mitgeteilt sind, so ist stets anzugeben, ob der Glyzeringehalt des Weines nach Nr. 9a oder 9b bestimmt worden ist.

10. Bestimmung des Zuckers.

Die Bestimmung des Zuckers geschieht gewichtsanalytisch mit *Fehling*scher Lösung.

Herstellung der erforderlichen Lösungen.

1. Kupfersulfatlösung: 69·278 g kristallisiertes Kupfersulfat werden mit Wasser zu 1 l gelöst.

2. Alkalische Seignettesalzlösung: 346 g Seignettesalz (Kaliumnatriumtartrat) und 103·2 g Natriumhydrat werden mit Wasser zu 1 l gelöst und die Lösung durch Asbest filtriert.

Die beiden Lösungen sind getrennt aufzubewahren.

Vorbereitung des Weines zur Zuckerbestimmung.

Zunächst wird der annähernde Zuckergehalt des zu untersuchenden Weines ermittelt, indem man von seinem Extraktgehalt die Zahl 2 abzieht. Weine, die hiernach höchstens 1 g Zucker in 100 cm^3 enthalten, können unverdünnt zur Zuckerbestimmung verwendet werden; Weine, die mehr als 1 g in 100 cm^3 enthalten, müssen dagegen soweit verdünnt werden, daß die verdünnte Flüssigkeit höchstens 1 g Zucker in 100 cm^3 enthält. Die für den annähernden Zuckergehalt gefundene Zahl (Extrakt weniger 2) gibt an, auf das wievielfache Maß man den Wein verdünnen muß, damit die Lösung nicht mehr als 1% Zucker enthält. Zur Vereinfachung der Abmessung und Umrechnung rundet man die Zahl (Extrakt weniger 2) nach oben auf eine ganze Zahl ab. Zur Verdünnung ist so viel Wein zu nehmen, daß die Menge der verdünnten Lösung mindestens 100 cm^3 beträgt. Enthält beispielsweise ein Wein 4·77 g Extrakt in 100 cm^3, dann ist der Wein zur Zuckerbestimmung auf das 4·77 — 2 = 2·77fache oder abgerundet auf das dreifache Maß mit Wasser zu verdünnen. Man läßt in diesem Falle aus einer Bürette 33·3 cm^3 Wein von 15° C in ein 100 cm^3-Kölbchen fließen und füllt den Wein mit destilliertem Wasser bis zur Marke auf.

Ausführung der Bestimmung des Zuckers im Weine.

100 cm^3 Wein oder, bei einem Zuckergehalte von mehr als 1%, 100 cm^3 eines in der vorher beschriebenen Weise verdünnten Weines werden

in einem Meßkölbchen abgemessen, in eine Porzellanschale gebracht, mit Alkalilauge neutralisiert und im Wasserbade auf etwa 25 *cm*³ eingedampft. Zur Entfernung von Gerbstoff und Farbstoff fügt man zu dem entgeisteten Weinrückstande, sofern es sich um Rotweine oder erhebliche Mengen Gerbstoff enthaltende Weißweine handelt, 5—10 *g* gereinigte Tierkohle, rührt das Gemisch unter Erwärmen auf dem Wasserbade mit einem Glasstabe gut um und filtriert die Flüssigkeit in das 100 *cm*³-Kölbchen zurück. Die Tierkohle wäscht man solange mit heißem Wasser sorgfältig aus, bis das Filtrat nach dem Erkalten nahezu 100 *cm*³ beträgt. Man versetzt dieses mit drei Tropfen einer gesättigten Lösung von Natriumkarbonat, schüttelt um und füllt die Mischung bei 15° C auf 100 *cm*³ auf. Entsteht durch den Zusatz von Natriumkarbonat eine Trübung, so läßt man die Mischung 2 Stunden stehen und filtriert dann. Das Filtrat dient zur Bestimmung des Zuckers.

An Stelle der Tierkohle kann zur Entfernung von Gerbstoff und Farbstoff aus dem Wein auch Bleiessig benutzt werden. In diesem Falle verfährt man, wie folgt: 160 *cm*³ Wein werden in der vorher beschriebenen Weise neutralisiert und entgeistet, und der entgeistete Weinrückstand wird bei 15° C mit Wasser auf das ursprüngliche Maß wieder aufgefüllt. Hierzu setzt man 16 *cm*³ Bleiessig, schüttelt um und filtriert. Zu 88 *cm*³ des Filtrates fügt man 8 *cm*³ einer gesättigten Natriumkarbonatlösung oder einer bei 20° C gesättigten Lösung von Natriumsulfat, schüttelt um und filtriert aufs neue. Das letzte Filtrat dient zur Bestimmung des Zuckers. Durch die Zusätze von Bleiessig und Natriumkarbonat oder Natriumsulfat ist das Volumen des Weines um $^1/_5$ vermehrt worden, was bei der Berechnung des Zuckergehaltes zu berücksichtigen ist.

a) Bestimmung des Invertzuckers.

In einer vollkommen glatten Porzellanschale werden 25 *cm*³ Kupfersulfatlösung, 25 *cm*³ Seignettesalzlösung und 25 *cm*³ Wasser gemischt und auf einem Drahtnetz zum Sieden erhitzt. In die siedende Mischung läßt man aus einer Pipette 25 *cm*³ des in der beschriebenen Weise vorbereiteten Weines fließen und kocht nach dem Wiederbeginn des lebhaften Aufwallens noch genau 2 Minuten. Man filtriert das ausgeschiedene Kupferoxydul mittelst einer Saugpumpe sofort durch ein gewogenes Asbestfilterröhrchen und wäscht letzteres mit heißem Wasser und zuletzt mit Alkohol und Äther aus. Nachdem das Röhrchen mit dem Kupferoxydulniederschlage bei 100° C getrocknet ist, erhitzt man stark bei Luftzutritt, verbindet das Röhrchen dann mit einem Wasserstoffentwicklungsapparat, leitet trockenen, reinen Wasserstoff hindurch und erhitzt wieder, aber mit einer kleinen Flamme, bis das Kupferoxyd vollkommen zu metallischem Kupfer reduziert ist. Dann läßt man im Wasserstoffstrom erkalten und wägt. Die dem gewogenen Kupfer entsprechende Menge Invertzucker entnimmt man der Tafel III. (Die Reinigung des Asbestfilterröhrchens geschieht durch Auflösen des Kupfers in heißer Salpetersäure, Auswaschen mit Wasser, Alkohol und Äther, Trocknen und Erhitzen im Wasserstoffstrome). (Siehe auch S. 430.)

b) Bestimmung des Rohrzuckers.

Zum qualitativen Nachweis von Rohrzucker hat *Rothenfusser*[1] folgendes Verfahren angegeben:

a) Trockene Weine.

50 *cm*³ einer 5%igen Baryumhydroxydlösung werden mit 10 *cm*³ einer 3%igen Wasserstoffsuperoxydlösung versetzt und dann 10 *cm*³ des zu untersuchenden Weines hinzugegeben. Man verwendet zweckmäßig Nickelschalen oder gläserne, halbkugelförmige Abdampfschalen und erhitzt 20 Minuten auf dem kochenden Wasserbade. Sollte sich nach Ablauf von etwa 5 Minuten, während welcher Zeit man einige Male den Niederschlag aufrührt, eine leichte Gelbfärbung zeigen, dann gibt man unter Umrühren noch einige Tropfen von der Wasserstoffsuperoxydlösung hinzu, worauf vollständige Entfärbung eintritt. Nun wird filtriert.

5 *cm*³ des vollständig klaren und farblosen Filtrates werden mit 5 *cm*³ des Diphenylamin-Eisessig-Salzsäure-Reagens (siehe S. 391) versetzt, geschüttelt und ins kochende Wasserbad gebracht. Ist Saccharose vorhanden, so entsteht nach etwa 2—3 Minuten eine leichte Blaufärbung, deren Stärke rasch zunimmt. Nach 7—8 Minuten wird der Reagierzylinder aus dem Wasserbade genommen und die Färbung gegen das Licht betrachtet. Die klare Lösung ist dann entweder farblos oder je nach Gehalt mehr oder weniger stark blau gefärbt.

Nach diesem Verfahren kann man in der Mehrzahl der Fälle arbeiten. Nur bei einzelnen hochwertigen Weinen konnte einige Male eine leichte Bläuung beobachtet werden, die aber, wie sich zeigte, nur deshalb entstand, weil die Menge des Baryumhydroxyds zum völligen Abbau nicht reichte. In diesen Fällen wiederholt man das Verfahren in der Weise, daß man 5 *g* Baryumhydroxyd in 50 *cm*³ destilliertem Wasser heiß löst, Wasserstoffsuperoxyd zugibt und im übrigen wie oben verfährt.

b) Süßweine.

10 *cm*³ Süßwein werden mit 50 *cm*³ Azeton ½ Minute lang in einem Mischzylinder geschüttelt, wobei eine Trübung entsteht. Alsdann setzt man etwa eine Messerspitze Infusorienerde hinzu und schüttelt wieder, worauf sich augenblicklich eine sich rasch absetzende, zähe Ausscheidung bildet, während die überstehende Flüssigkeit klar ist. Man filtriert 30 *cm*³ ab, setzt dem Filtrat 30 *cm*³ Wasser hinzu und bringt die Mischung aufs Wasserbad. Man erwärmt so lange, bis das Azeton verflüchtigt ist, gibt dann 6 *g* Baryumhydroxyd und 25 *cm*³ 3%iges Wasserstoffsuperoxyd zu und rührt, bis das Baryumhydroxyd gelöst ist. Sollte sich nach etwa 5 Minuten eine Gelbfärbung der Flüssigkeit zeigen, dann gibt man noch tropfenweise Wasserstoffsuperoxyd hinzu, bis völlige Entfärbung eingetreten ist. Nach 20 Minuten wird filtriert.

5 *cm*³ des Filtrates werden mit 5 *cm*³ verdünnter Schwefelsäure und 5 *cm*³ Diphenylaminreagens versetzt, und die Mischung wird etwa

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahr. u. Genußm. Bd. **24**. S. 93 (1912).

8 Minuten ins kochende Wasserbad gebracht. Man läßt dann stehen, bis sich das Baryumsulfat abgesetzt hat, und beurteilt den Farbenton gegen das Licht. Bei Anwesenheit von Saccharose zeigt sich je nach Menge eine schöne bis intensiv dunkelblaue Färbung. Eine leichte Blaufärbung kann aus den vorher angeführten Gründen außer acht gelassen werden.

Es sei darauf hingewiesen, daß bei künstlichen Süßweinen positive Reaktion dann zu bemerken war, wenn eingedickte, stark erhitzte Säfte verwendet wurden, eine Beobachtung, die für die Beurteilung von Süßweinen wichtig ist.

Die quantitative Bestimmung des Rohrzuckers erfolgt in folgender Weise:

Man mißt 50 cm^3 des in der S. 399 beschriebenen Weise erhaltenen entgeisteten, alkalisch gemachten, gegebenenfalls von Gerbstoff und Farbstoff befreiten und verdünnten Weines mittelst einer Pipette in ein Kölbchen von etwa 100 cm^3 Inhalt, neutralisiert genau mit Salzsäure, fügt 5 cm^3 einer 1%igen Salzsäure hinzu und erhitzt die Mischung eine halbe Stunde im siedenden Wasserbade. Dann neutralisiert man die Flüssigkeit genau, dampft sie im Wasserbade etwas ein, macht sie mit einer Lösung von Natriumkarbonat schwach alkalisch und filtriert durch ein kleines Filter in ein 50 cm^3-Kölbchen, das man durch Nachwaschen bis zur Marke füllt. In 25 cm^3 der zuletzt erhaltenen Lösung wird, wie unter Nr. 10*a* angegeben, der Invertzuckergehalt bestimmt.

Berechnung. Man rechnet die nach der Inversion mit Salzsäure erhaltene Kupfermenge auf Gramme Invertzucker in 100 cm^3 Wein um. Bezeichnet man mit

a die Gramme Invertzucker in 100 cm^3 Wein, welche vor der Inversion mit Salzsäure gefunden wurden,

b die Gramme Invertzucker in 100 cm^3 Wein, welche nach der Inversion mit Salzsäure gefunden wurden,

so sind enthalten:

$x = 0{\cdot}95\,(b - a)$ Gramm Rohrzucker in 100 cm^3 Wein.

Anmerkung. Es ist stets anzugeben, ob die Entfernung des Gerbstoffes und Farbstoffes durch Kohle oder durch Bleiessig vorgenommen wurde.

11. Polarisation.

Zur Prüfung des Weines auf sein Verhalten gegen das polarisierte Licht sind nur große, genaue Apparate zu verwenden, an denen noch Zehntelgrade abgelesen werden können. Die Ergebnisse der Prüfung sind in Winkelgraden, bezogen auf eine 200 *mm* lange Schicht des ursprünglichen Weines, anzugeben. Die Polarisation ist bei 15° C auszuführen.

Ausführung der polarimetrischen Prüfung des Weines.

a) Bei Weißweinen. 60 cm^3 Weißwein werden mit Alkali neutralisiert, im Wasserbade auf die Hälfte eingedampft, auf das ursprüngliche Maß

wieder aufgefüllt und mit 3 *cm*³ Bleiessig versetzt; der entstandene Niederschlag wird abfiltriert. Zu 31·5 *cm*³ des Filtrates setzt man 1·5 *cm*³ einer gesättigten Lösung von Natriumkarbonat oder einer bei 20° C gesättigten Lösung von Natriumsulfat, filtriert den entstandenen Niederschlag ab und polarisiert das Filtrat. Der von dem Weine eingenommene Raum ist durch die Zusätze um $^1/_{10}$ vermehrt worden, worauf Rücksicht zu nehmen ist.

b) Bei Rotweinen. 60 *cm*³ Rotwein werden mit Alkali neutralisiert, im Wasserbade auf ein Drittel eingedampft, filtriert, auf das ursprüngliche Maß wieder aufgefüllt und mit 6 *cm*³ Bleiessig versetzt. Man filtriert den Niederschlag ab, setzt zu 33 *cm*³ des Filtrates 3 *cm*³ einer gesättigten Lösung von Natriumkarbonat oder einer bei 20° C gesättigten Lösung von Natriumsulfat, filtriert den Niederschlag ab und polarisiert das Filtrat. Der von dem Rotweine eingenommene Raum wird durch die Zusätze um $^1/_5$ vermehrt.

Gelingt die Entfärbung eines Weines durch Behandlung mit Bleiessig nicht vollständig, so ist sie mittelst Tierkohle auszuführen. Man mißt 50 *cm*³ Wein in einem Meßkölbchen ab, führt ihn in eine Porzellanschale über, neutralisiert ihn genau mit einer Alkalilösung und verdampft den neutralisierten Wein bis auf etwa 25 *cm*³. Zu dem entgeisteten Weinrückstande setzt man 5—10 *g* gereinigte Tierkohle, rührt unter Erwärmen auf dem Wasserbade mit einem Glasstabe gut um und filtriert die Flüssigkeit ab. Die Tierkohle wäscht man solange mit heißem Wasser sorgfältig aus, bis je nach der Menge des in dem Weine enthaltenen Zuckers das Filtrat 75—100 *cm*³ beträgt. Man dampft das Filtrat in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade bis zu 30—40 *cm*³ ein, filtriert den Rückstand in das 50 *cm*³-Kölbchen zurück, wäscht die Porzellanschale und das Filter mit Wasser aus und füllt bis zur Marke auf. Das Filtrat wird polarisiert; eine Verdünnung des Weines findet bei dieser Vorbereitung nicht statt.

12. Nachweis des unreinen Stärkezuckers durch Polarisation.

a) Hat man bei der Zuckerbestimmung nach Nr. 10 höchstens 0·1 *g* reduzierenden Zucker in 100 *cm*³ Wein gefunden, und dreht der Wein bei der nach Nr. 11 ausgeführten Polarisation nach links oder gar nicht oder höchstens 0·3° nach rechts, so ist dem Weine unreiner Stärkezucker nicht zugesetzt worden.

b) Hat man bei der Zuckerbestimmung nach Nr. 10 höchstens 0·1 *g* reduzierenden Zucker gefunden, und dreht der Wein mehr als 0·3° bis höchstens 0·6° nach rechts, so ist die Möglichkeit des Vorhandenseins von Dextrin in dem Weine zu berücksichtigen und auf dieses nach Nr. 19 zu prüfen. Ferner ist nach dem folgenden, unter Nr. 12 *d* beschriebenen Verfahren die Prüfung auf die unvergorenen Bestandteile des unreinen Stärkezuckers vorzunehmen.

c) Hat man nach der Zuckerbestimmung nach Nr. 10 höchstens 0·1 *g* Gesamtzucker in 100 *cm*³ Wein gefunden, und dreht der Wein bei der Polarisation mehr als 0·6° nach rechts, so ist zunächst nach Nr. [illegible]

auf Dextrin zu prüfen. Ist dieser Stoff in dem Weine vorhanden, so verfährt man zum Nachweis der unvergorenen Bestandteile des unreinen Stärkezuckers nach dem folgenden, unter Nr. 12 *d* angegebenen Verfahren. Ist Dextrin nicht vorhanden, so enthält der Wein die unvergorenen Bestandteile des unreinen Stärkezuckers.

d) Hat man bei der Zuckerbestimmung nach Nr. 10 mehr als 0·1 *g* Gesamtzucker in 100 cm^3 Wein gefunden, so weist man den Zusatz unreinen Stärkezuckers auf folgende Weise nach.

α) 210 cm^3 Wein werden im Wasserbade auf ein Drittel eingedampft, der Verdampfungsrückstand wird mit so viel Wasser versetzt, daß die verdünnte Flüssigkeit nicht mehr als 15% Zucker enthält; diese Lösung wird in einem Kolben mit etwa 5 *g* gärkräftiger Bierhefe, die optisch aktive Bestandteile nicht enthält, versetzt und solange bei 20 bis 25° C stehen gelassen, bis die Gärung beendet ist.

β) Die vergorene Flüssigkeit wird mit einigen Tropfen einer 20%igen Kaliumazetatlösung versetzt und in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade unter Zusatz von Quarzsand zu einem dünnen Sirup verdampft. Zu dem Rückstande setzt man unter beständigem Umrühren allmählich 200 cm^3 Alkohol von 90 Maßprozent. Nachdem sich die Flüssigkeit geklärt hat, wird der alkoholische Auszug in einen Kolben filtriert, Rückstand und Filter werden mit wenig Alkohol von 90 Maßprozent gewaschen, und der Alkohol wird größtenteils abdestilliert. Der Rest des Alkohols wird verdampft und der Rückstand durch Wasserzusatz auf etwa 10 cm^3 gebracht. Hierzu setzt man 2—3 *g* gereinigte in Wasser aufgeschlemmte Tierkohle, rührt mit einem Glasstab wiederholt tüchtig um, filtriert die entfärbte Flüssigkeit in einen kleinen eingeteilten Zylinder und wäscht die Tierkohle mit heißem Wasser aus, bis das auf 15° C abgekühlte Filtrat 30 cm^3 beträgt. Zeigt dieses bei der Polarisation eine Rechtsdrehung von mehr als 0·5°, so enthält der Wein die unvergorenen Bestandteile des unreinen Stärkezuckers. Beträgt die Drehung gerade + 0·5° oder nur wenig über oder unter dieser Zahl, so wird die Tierkohle aufs neue mit heißem Wasser ausgewaschen, bis das auf 15° C abgekühlte Filtrat 30 cm^3 beträgt. Die bei der Polarisation dieses Filtrates gefundene Rechtsdrehung wird der zuerst gefundenen hinzugezählt. Wenn das Ergebnis der zweiten Polarisation mehr als den 5. Teil der ersten beträgt, muß die Kohle noch ein drittes Mal mit 30 cm^3 heißem Wasser ausgewaschen und das Filtrat polarisiert werden.

Anmerkung. Die Rechtsdrehung kann durch gewisse Bestandteile mancher Honigsorten verursacht sein.

13. Nachweis fremder Farbstoffe in Rotweinen.

Rotweine sind stets auf Teerfarbstoffe und auf ihr Verhalten gegen Bleiessig zu prüfen. Ferner ist in dem Weine ein mit Alaun und Natriumazetat gebeizter Wollfaden zu kochen und das Verhalten des auf der Wollfaser niedergeschlagenen Farbstoffes gegen Reagenzien zu prüfen. Die bei dem Nachweis fremder Farbstoffe im einzelnen befolgten Verfahren sind stets anzugeben.

Zunächst prüft man den gefärbten Wollfaden durch Auskochen mit Wasser, bei Teerfarbstoffen bleibt die Farbe bestehen, bei echten Rotweinfarben nicht; mit Ammoniak wird der Rotweinfarbstoff grünlichblau.

Werden zu 20 *cm*³ Wein 5 *cm*³ Bleiessig zugesetzt, so entstehen schiefergraue, bläuliche oder grünliche Niederschläge, bei Gegenwart von Kermesbeersaft rotviolette, bei Teerfarbstoffen bleibt die Lösung gewöhnlich gefärbt.

Bei Verdacht auf Kermesbeerensaft ist zunächst folgende Reaktion auszuführen: 20 *cm*³ Wein werden mit 10 *cm*³ einer 10%igen Lösung von Kalialaun und 10 *cm*³ einer 10%igen Lösung von kristallisierter Soda versetzt und geschüttelt. Die Lösung muß neutral reagieren, andernfalls ist noch etwas Soda zuzugeben. Ist das Filtrat rot gefärbt und wird der Farbstoff weder aus saurer noch alkalischer Lösung durch Amylalkohol aufgenommen, wird er ferner durch Kaliumhydroxyd gelb gefärbt und bleibt der Farbstoff auf Zusatz einer konzentrierten Lösung von Kaliumbisulfit und Essigsäure unverändert, so liegt Kermesbeersaft vor.

Zum Nachweis von Fuchsin werden 100 *cm*³ Wein mit 50 *cm*³ Bleiessig versetzt und filtriert. Das Filtrat wird mit Amylalkohol ausgeschüttelt, welcher das Fuchsin aufnimmt. Die amylalkoholische Lösung wird mit etwas Salzsäure versetzt und ein anderer Teil mit Ammoniak; entfärben sich beide, so liegt Fuchsin vor. Entsteht mit Ammoniak eine purpurviolette Farbe, so ist Orseille oder Persio vorhanden (Pflanzenfarbstoffe).

Nach *Cazeneuve*[1]) werden 10 *cm*³ Wein mit 0·2 *g* gelbem Quecksilberoxyd versetzt, längere Zeit geschüttelt und durch ein doppeltes Filter filtriert. Bei Gegenwart von Fuchsin und Azofarbstoffen ist das Filtrat rot.

Nach *Walff*-Winterthur verfährt man folgendermaßen: 10 *cm*³ Wein werden mit 10 *cm*³ einer gesättigten Sublimatlösung und mit 10 Tropfen 30%iger Kalilauge versetzt und filtriert. Ist das Filtrat gelblich, so versetzt man mit Essigsäure: Rosafärbung zeigt Säurefuchsin an. Ist das Filtrat gelbrot, rosa oder rotviolett, so wird mit Salzsäure angesäuert: bleibt die Farbe unverändert oder wird sie rosa, so liegen Oxyazofarben (Bordeaux, Ponceau), wird sie blaurot, so liegen Amidoazofarbstoffe (Kongorot usw.) vor. Alkali muß in beiden Fällen die ursprüngliche Farbe wieder herstellen. Ist das Filtrat blaurot und wird es durch Salszsäure gelbrot, so liegt Cochenille oder Orseille vor, wenn durch Ammoniak wieder die blaurote Färbung entsteht.

In Weißwein ist hauptsächlich auf Karamel[2]) zu prüfen. Dieser Farbstoff ist durch Eiweißlösung nicht zu entfernen, während natürliche Farbstoffe sich wenigstens zum Teil niederschlagen und das Filtrat wesentlich heller wird. Im übrigen ist auf gelbe Farbstoffe zu prüfen, wie S. 235 beschrieben worden ist.

---

[1]) Compt. rend. T. **102**. p. 52 (1886).

[2]) *C. Amthur*, Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. **24**. S. 30 (1885). — *K. Windisch*, Zeitschr. f. d. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. **9**. S. 344 (1905). — *A. Ju*[illegible], ebenda. Bd. **17**. S. 269 (1909).

14. Bestimmung aller organischen Säuren.

1. In 50 cm^3 Wein werden die flüchtigen Säuren nach Nr. 7 bestimmt, im Rückstand nach *Möslinger* die Milchsäure nach Nr. 16. Der in 80%igem Alkohol unlösliche Barytniederschlag dient zur Bestimmung der Bernsteinsäure nach Nr. 18.

2. In 50 oder 100 cm^3 Wein wird die Weinsäure nach Nr. 15 bestimmt, das Filtrat dient zur Bestimmung der Äpfel- und Bernsteinsäure nach Nr. 19.

3. Die Gerbsäure muß in einer besonderen Probe nach *Neubauer*, Annalen der Önologie, 1872, oder *Ruoss*, Zeitschr. f. analyt. Chemie, 1902, Bd. 41, S. 717 bestimmt werden.

15. **Bestimmung der Gesamtweinsteinsäure, der freien Weinsteinsäure, des Weinsteins und der an alkalische Erden gebundenen Weinsteinsäure.**

a) Bestimmung der Gesamtweinsteinsäure.

Man setzt zu 100 cm^3 Wein in einem Becherglase 2 cm^3 Eisessig, 3 Tropfen einer 20%igen Kaliumazetatlösung und 15 *g* gepulvertes reines Chlorkalium. Letzteres bringt man durch Umrühren nach Möglichkeit in Lösung und fügt dann 15 cm^3 Alkohol von 95 Maß-% hinzu. Nachdem man durch starkes, etwa 1 Minute anhaltendes Reiben eines Glasstabes an der Wand des Becherglases die Abscheidung des Weinsteins eingeleitet hat, läßt man die Mischung wenigstens 15 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und filtriert dann den kristallinischen Niederschlag ab. Hierzu bedient man sich eines *Gooch*schen Platin- oder Porzellantiegels mit einer dünnen Asbestschicht, welche mit einem Platindrahtnetz von mindestens $\frac{1}{2}$ *mm* weiten Maschen bedeckt ist, oder einer mit Papierfilterstoff bedeckten *Witt*schen Porzellansiebplatte; in beiden Fällen wird die Flüssigkeit mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Zum Auswaschen des kristallinischen Niederschlages dient ein Gemisch von 15 *g* Chlorkalium, 20 cm^3 Alkohol von 95 Maß-% und 100 cm^3 destilliertem Wasser. Das Becherglas wird etwa dreimal mit wenigen Kubikzentimetern dieser Lösung abgespült, wobei man jedesmal gut abtröpfeln läßt. Sodann werden Filter und Niederschlag durch etwa dreimaliges Abspülen und Aufgießen von wenigen Kubikzentimetern der Waschflüssigkeit ausgewaschen; von letzterer dürfen im ganzen nicht mehr als 20 cm^3 gebraucht werden. Der auf dem Filter gesammelte Niederschlag wird darauf mit siedendem alkalifreiem, destilliertem Wasser in das Becherglas zurückgespült und die zum Kochen erhitzte Lösung in der Siedehitze mit $\frac{1}{4}$-Normalalkalilauge unter Verwendung von empfindlichem blauviolettem Lackmuspapier titriert.

Berechnung: Wurden bei der Titration a Kubikzentimeter $\frac{1}{4}$-Normalalkalilauge verbraucht, so sind enthalten: $x = 0{\cdot}0375\,(a + 0{\cdot}6)$ Gramm Gesamtweinsteinsäure in 100 cm^3 Wein.

b) Bestimmung der freien Weinsteinsäure.

50 *cm*³ eines gewöhnlichen ausgegorenen Weines bzw. 25 *cm*³ eines erhebliche Mengen Zucker enthaltenden Weines werden in der unter Nr. 4 vorgeschriebenen Weise in einer Platinschale verascht. Die Asche wird vorsichtig mit 20 *cm*³ $^1/_4$-Normalsalzsäure versetzt und nach Zusatz von 20 *cm*³ destilliertem Wasser über einer kleinen Flamme bis zum beginnenden Sieden erhitzt. Die heiße Flüssigkeit wird mit $^1/_4$-Normalalkalilauge unter Verwendung von empfindlichem blauviolettem Lackmuspapier titriert.

Berechnung: Wurden a Kubikzentimeter Wein angewandt und bei der Titration b Kubikzentimeter $^1/_4$-Normalalkalilauge verbraucht, enthält ferner der Wein c Gramm Gesamtweinsteinsäure in 100 *cm*³ (nach Nr. 14 *a* bestimmt), so sind enthalten:

$$x = c - \frac{3{\cdot}75\,(20 - b)}{a}$$

Gramm freie Weinsteinsäure in 100 *cm*³ Wein.

Ist a = 50, so wird $x = c + 0{\cdot}075\,b - 1{\cdot}5$;
ist a = 25, so wird $x = c + 0{\cdot}15\,b - 3$.

c) Bestimmung des Weinsteins.

50 *cm*³ eines gewöhnlichen ausgegorenen Weines, bzw. 25 *cm*³ eines erhebliche Mengen Zucker enthaltenden Weines, werden in der unter Nr. 4 vorgeschriebenen Weise in einer Platinschale verascht. Die Asche wird mit heißem destilliertem Wasser ausgelaugt, die Lösung durch ein kleines Filter filtriert und die Schale sowie das Filter mit heißem Wasser sorgfältig ausgewaschen. Der wässerige Aschenauszug wird vorsichtig mit 20 *cm*³ $^1/_4$-Normalsalzsäure versetzt und über einer kleinen Flamme bis zum beginnenden Sieden erhitzt. Die heiße Lösung wird mit $^1/_4$-Normalalkalilauge unter Verwendung von empfindlichem blauviolettem Lackmuspapier titriert.

Berechnung: Wurden d Kubikzentimeter Wein angewandt und bei der Titration e Kubikzentimeter $^1/_4$-Normalalkalilauge verbraucht, enthält ferner der Wein c Gramm Gesamtweinsteinsäure in 100 *cm*³ (nach Nr. 14 *a* bestimmt), so berechnet man zunächst den Wert von n aus nachstehender Formel:

$$n = 26{\cdot}67\,c - \frac{100\,(20 - e)}{d}.$$

α) Ist n gleich Null oder negativ, so ist sämtliche Weinsteinsäure in der Form von Weinstein in dem Weine vorhanden; dann sind enthalten:

$x = 1{\cdot}2533\,c$ Gramm Weinstein in 100 *cm*³ Wein.

β) Ist n positiv, so sind enthalten:

$$x = \frac{4{\cdot}7\,(20 - e)}{d}$$

Gramm Weinstein in 100 *cm*³ Wein.

d) Bestimmung der an alkalische Erden gebundenen Weinsteinsäure.

Die Menge der an alkalische Erden gebundenen Weinsteinsäure wird aus den bei der Bestimmung der freien Weinsteinsäure und des Weinsteins unter Nr. 14 *b* und *c* gefundenen Zahlen berechnet. Haben b, d und e dieselbe Bedeutung wie dort und ist

α) n gleich Null oder negativ gefunden worden, so ist an alkalische Erden gebundene Weinsteinsäure in dem Weine nicht enthalten:

β) n positiv gefunden worden, so sind enthalten:

$$x = \frac{3{\cdot}75\,(e - b)}{d}$$

Gramm an alkalische Erden gebundene Weinsteinsäure in 100 *cm*³ Wein.

16. Bestimmung der Milchsäure nach *W. Möslinger.*

Aus 50 oder 100 *cm*³ Wein werden die flüchtigen Säuren nach Nr. 7 unter Benutzung eines Perlenaufsatzes mit Wasserdampf abdestilliert (200 *cm*³). Den Rückstand bringt man in eine kleine Porzellanschale und sättigt mit Barytwasser bis zur neutralen Reaktion gegen Lackmus. Nach Zusatz von 5—10 *cm*³ 10%iger Chlorbaryumlösung wird auf 20 *cm*³ eingedampft und mit einigen Tropfen Barytwasser wieder genau neutralisiert. Darauf wird unter Umrühren in kleinen Mengen soviel 95%iger Alkohol zugesetzt, bis die Flüssigkeitsmenge 70—80 *cm*³ beträgt. Das Ganze wird in einen 100 *cm*³-Kolben gegossen, die Schale mit Alkohol nachgespült und auf 100 *cm*³ aufgefüllt. Dann wird durch ein trockenes Faltenfilter unter Bedecken des Trichters filtriert und 80 *cm*³ des Filtrates werden unter Zusatz von Wasser in einer Platinschale verdampft. Der Rückstand wird vorsichtig verkohlt, aber nicht verascht, die Alkalität wird in der üblichen Weise mit $^1/_2$-Normalsalzsäure bestimmt. 1 *cm*³ Alkalität = 0·090 *g* Milchsäure oder = 0·075 *g* Weinsäure.

17. Bestimmung der Zitronensäure.

Zum qualitativen Nachweis werden nach *Möslinger*[1]) 10 *cm*³ Wein in einem Reagenzglas mit 1—2 *cm*³ Eisessig und der nötigen Menge einer gesättigten Bleiazetatlösung zum Sieden erhitzt und heiß filtriert. Das Filtrat wird in kaltes Wasser gesetzt, wobei es sich bei Gegenwart von Zitronensäure milchig (!) trübt, ein nach einiger Zeit entstehender Niederschlag von Bleitartrat ist kristallinisch. In zweifelhaften Fällen wird noch mehrmals mit heißem Wasser aufgenommen, heiß filtriert und das Filtrat beobachtet. Störend kann Bleimalat sein. Die Äpfelsäure kann auch als Barytsalz vorher von der Zitronensäure getrennt werden, da äpfelsaures Baryum in Alkohol von 12—15 Vol.-% leicht löslich, zitronensaures Baryum aber schwer löslich ist. Siehe Bestimmung der Äpfelsäure.

Statt dieses Verfahrens kann man nach *G. Denigès*[2]) folgende Methode anwenden:

[1]) Zeitschr. f. d. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. 6. S. 1019 (1903).
[2]) Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 38. S. 718 (1899).

10 cm^3 Wein werden mit 1—1·5 *g* Bleisuperoxyd und mit 2 cm^3 Merkurisulfatlösung (5 *g* HgO 20 cm^3 konzentrierter H_2SO_4 und 100 cm^3 Wasser) geschüttelt. 5—6 cm^3 des Filtrates werden zum Sieden erhitzt und tropfenweise (bis zu 10 Tropfen) mit Permanganatlösung bis zur Entfärbung versetzt. Normale Weine geben nur schleierartige Trübungen (normale Spuren von Zitronensäure). Bei Gegenwart von 0·01 *g* Zitronensäure in 100 cm^3 entsteht Trübung, bei mehr als 0·04 *g* setzt sich ein pulveriger Niederschlag ab. Zuckerhaltige Weine sind erst zu vergären.

Dieser Nachweis beruht auf der Überführung der Zitronensäure in Azetondikarbonsäure, dessen Quecksilbersalz unlöslich ist.

Nach *E. Dupont*[1]) soll die vielfach angenommene konservierende Wirkung der Zitronensäure bei Wein nicht bestehen. Französische Weine namentlich sind schon öfters fälschlicherweise eines Zusatzes von Zitronensäure verdächtig erklärt worden. Die Brauchbarkeit der Methode von *Denniges* wird ferner angezweifelt. Nach seiner Meinung ist in den meisten Weinen ein Körper vorhanden, der positiv reagiert, aber früher oder später verschwindet. Soll die Reaktion 0·1 *g* Zitronensäure in 1 *l* noch richtig anzeigen, so empfehle es sich, konzentriertere Reagenzien zu verwenden, als die ursprüngliche Vorschrift angibt.

Zur quantitativen Bestimmung der Zitronensäure nach *A. Jörgensen*[2]) werden 100 cm^3 Wein mit Natronlauge genau neutralisiert, mit 10—15 cm^3 Bleiazetat gefällt und mit gleichen Teilen Alkohol von 90% versetzt. Am folgenden Tag wird filtriert und der Niederschlag 3—4mal mit verdünntem Alkohol ausgewaschen. Darauf bringt man das Filter nebst Niederschlag in die Flasche zurück, versetzt mit 50—100 cm^3 Wasser, erhitzt zum Kochen und leitet Schwefelwasserstoff ein, bis alles Blei gefällt ist. Nach dem Abfiltrieren und Auswaschen wird das Filtrat auf 30 bis 40 cm^3 eingedampft, neutralisiert und weiter bis 10 cm^3 verdampft. Man verdünnt genau mit dem doppelten Volumen 90vol.-%igen Alkohols und läßt über Nacht stehen. Das Gelöste wird abfiltriert und der Rückstand wird nochmals mit heißem Wasser aufgenommen und mit Alkohol gefällt.

In den Filtraten bestimmt man zunächst die Weinsäure nach N. 15, das Filtrat oder, falls keine Weinsäure vorhanden war, die Lösung selbst bringt man in einen Meßzylinder, wäscht mit 1 cm^3 verdünnter Salzsäure nach und bringt das Ganze auf 10 cm^3, darauf schüttelt man 5mal mit 50 cm^3 Äther im Scheidetrichter aus. Der Rückstand der Ätherausschüttelung wird wieder in 9 cm^3 Wasser gelöst, mit 1 cm^3 Salzsäure versetzt und in der gleichen Weise mit Äther ausgeschüttelt.

Die von Bernsteinsäure befreiten Lösungen werden mit Natronlauge neutralisiert, auf 40 cm^3 aufgefüllt und mit 10 cm^3 Baryumchlorid versetzt. Entsteht ein voluminöser Niederschlag, so spült man in einen größeren Meßkolben von 100 cm^3 und fügt noch etwas Chlorbaryum hinzu, damit

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 18. S. 571 (1909).

[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. Bd. 13. S. 241 (1907) und Bd. 17. S. 396 (1909).

alles Baryumtitrat in Lösung geht. Man filtriert von den Sulfaten, Phosphaten und Tannaten ab und spült mit Wasser nach, bis das Filtrat 72 *cm*³ beträgt, und füllt bis auf 100 mit absolutem Alkohol auf, jedenfalls muß ein Alkohol von 26 Vol.-% entstehen.

1. Zeigt sich nach 1 Stunde nur ein geringer Niederschlag, so wird er abfiltriert und mit 25 *cm*³ 26vol.-%igem Alkohol gewaschen.

2. Entsteht ein beträchtlicher Niederschlag, so wird er abfiltriert, mit heißem Wasser wieder gelöst, zu 72 *cm*³ aufgefüllt, nochmals mit Alkohol gefällt, um das Malat in Lösung zu bringen.

3. Entsteht wieder eine starke Fällung, so wird nochmals wie 2. verfahren. Der Niederschlag besteht dann aus reinem Zitrat.

Zur quantitativen Bestimmung fällt man dann das Baryum mit Schwefelsäure und wiegt, 1 *g* $BaSO_4 = 0{\cdot}548$ *g* wasserfreie Zitronensäure.

18. **Bestimmung der Bernsteinsäure nach** *C. v. d. Heide* **und** *H. Steiner*.[1])

50 *cm*³ Wein werden in einer Porzellanschale von 200 *cm*³ Fassungsraum auf dem Wasserbade entgeistet. Dann setzt man 1 *cm*³ 10%ige Baryumchloridlösung hinzu und fügt einen Tropfen Phenolphtaleïnlösung und soviel feingepulvertes Baryumhydroxyd in kleinen Anteilen zu, bis Rotfärbung eintritt. Während dieser Behandlung wird möglichst genau auf 20 *cm*³ eingeengt, wofür man in der Schale vorher eine Marke anbringt. Ist zuviel Baryt zugesetzt worden, so entfernt man ihn dadurch, daß man unter Rühren Kohlensäure auf die Flüssigkeitsoberfläche strömen läßt. Hierdurch wird die spätere Filtration erleichtert. Nach dem Erkalten werden unter Umrühren 85 *cm*³ 96%igen Alkohols zugegeben, wodurch neben anderen Bestandteilen die Baryumsalze der Bernstein-, Wein- und Apfelsäure quantitativ niedergeschlagen werden, während die der Milchsäure und Essigsäure in Lösung bleiben. Nach mindestens zweistündigem Stehen wird der Niederschlag abfiltriert und einige Male mit 80%igem Alkohol ausgewaschen, wodurch bei extraktreichen Weinen die spätere Oxydation erleichtert wird. Dann wird der Niederschlag mit heißem Wasser vom Filter in die Schale zurückgespült, zur vollständigen Entfernung des Alkohols auf dem siedenden Wasserbade eingeengt und unter weiterem Erhitzen mit 3—5 *cm*³ 5%iger Kaliumpermanganatlösung so lange versetzt, bis die rote Farbe 5 Minuten bestehen bleibt. Man gibt nochmals 5 *cm*³ der Kaliumpermanganatlösung hinzu und läßt weitere 15 Minuten einwirken. Bei abermaligem Verschwinden der Rotfärbung ist der Zusatz abermals zu wiederholen.

Ist die Oxydation beendet, so entfernt man den Überschuß an Kaliumpermanganat durch schweflige Säure, säuert vorsichtig mit 25%iger Schwefelsäure an und setzt schweflige Säure zu, bis aller Braunstein gelöst ist.

Dann dampft man bis auf etwa 35 *cm*³ ein, bringt die Flüssigkeit und den Niederschlag von Baryumsulfat mit Hilfe der Spritzflasche quan-

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. **17**. S. 304 (1909).

titativ in einen Ätherperforationsapparat und sorgt dafür, daß die Flüssigkeit etwa 10% freie Schwefelsäure enthält.

Nach 9 Stunden kann die Perforation (mit besonderem Apparat) als beendet angesehen werden. Nach 12 Stunden ist die Bernsteinsäure sicher quantitativ in den Äther übergegangen. Die ätherische Lösung wird in ein Becherglas gebracht und mit 20 *cm*³ Wasser versetzt, worauf man den Äther an einem warmen Orte verdunstet.

Unter Verwendung von Phenolphtaleïn neutralisiert man dann mit einer völlig halogenfreien $^1/_{10}$-Normallauge, bringt den Inhalt des Becherglases in ein 100 *cm*³ Meßkölbchen, versetzt mit 20 *cm*³ $^1/_{10}$-Normalsilbernitratlösung und füllt unter Umschütteln bis zur Marke auf. Schließlich filtriert man vom ausgefallenen bernsteinsauren Silber ab, bringt 50 *cm*³ des Filtrates in ein Becherglas und titriert nach Zusatz von Salpetersäure und Eisenammoniakalaunlösung mit $^1/_{10}$-Normalrhodanammonlösung das überschüssige Silber zurück:

Hat man 50 *cm*³ Wein genommen, 20 *cm*³ $^1/_{10}$-Normalsilbernitratlösung zugesetzt und zum Zurücktitrieren von 50 *cm*³ Filtrat c *cm*³ $^1/_{10}$-Normalrhodanammonlösung verbraucht, so sind in 100 *cm*³ Wein $x = 0{\cdot}0236$ a Gramm Bernsteinsäure enthalten, wobei $a = 10 - c$ ist.

Das Verfahren eignet sich auch für Moste und stark zuckerhaltige Weine.

19. Bestimmung der Äpfelsäure. Nach *C. v. d. Heide* und *H. Steiner*.[1]

Man bestimmt zunächst den Gehalt an Bernsteinsäure nach dem vorherigen Verfahren, dann ermittelt man die Gesamtmenge an Bernstein- und Äpfelsäure und berechnet aus der Differenz die Äpfelsäure.

Den Äpfel- und Bernsteinsäuregehalt bestimmt man auf folgende Weise:

Zuerst entfernt man die Weinsäure.

Man setzt zu 50 *cm*³ Wein in einem Becherglase 1 *cm*³ Eisessig, 0·25 *cm*³ einer 20%igen Kaliumazetatlösung, 7·5 *g* gepulvertes, reines Chlorkalium, das man durch Umrühren nach Möglichkeit in Lösung bringt, und fügt schließlich 7·5 *cm*³ Alkohol von 95 Maßprozent hinzu. Nachdem man durch starkes Reiben an der Wand des Becherglases die Abscheidung des Weinsteines eingeleitet hat, läßt man noch wenigstens 15 Stunden bei Zimmertemperatur stehen und filtriert dann den Niederschlag mit Hilfe der Wasserstrahlpumpe ab; zum Auswaschen dient ein Gemisch von 5 *g* Chlorkalium, 20 *cm*³ Alkohol von 95 Maßprozent und 100 *cm*³ destillierten Wassers. Das Becherglas wird 3mal mit einigen Kubikzentimetern dieser Lösung abgespült, wobei man jedesmal gut abtropfen läßt. Dann werden Filter und Niederschlag ebenfalls dreimal mit einigen Kubikzentimetern der Waschflüssigkeit ausgewaschen. Von dieser dürfen im ganzen nicht mehr als 10 *cm*³ verbraucht werden.

---

[1]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 17. S. 307 (1909).

Das Filtrat, welches nur noch geringe, nicht weiter störende Weinsäuremengen enthält, wird in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade zur Entfernung des Alkohols und der Essigsäure bis auf wenige Kubikzentimeter eingeengt. Die Kristalle von Kaliumchlorid müssen wiederholt mit Hilfe eines Pistills zerdrückt werden, um die Essigsäure möglichst auszutreiben. Dann nimmt man den Rückstand mit wenig Wasser auf, versetzt $5\,cm^3$ einer $10^0/_0$igen Baryumchloridlösung mit soviel fein gepulvertem Baryumhydroxyd, unter Verwendung eines Tropfens Phenolphtaleïnlösung als Indikator, bis bleibende Rotfärbung entsteht. Durch Einleiten von Kohlendioxyd wird das überflüssige Baryumhydroxyd beseitigt, wodurch die spätere Filtration erleichtert wird. Zu der genau auf $20\,cm^3$ gebrachten Flüssigkeit werden nach dem Erkalten unter Umrühren $85\,cm^3$ Alkohol von 96 Maßprozent gegeben. Nach zweistündigem Stehen wird der Niederschlag abfiltriert und mit $80^0/_0$igem Alkohol ausgewaschen. Dann wird er mit heißem Wasser vom Filter in die Schale zurückgespritzt und auf dem Wasserbade fast bis zur Trockene eingedampft, wobei die auskristallisierenden Kaliumsalzkrusten wiederholt mit einem Pistill zerdrückt werden müssen.

Den noch feuchten Rückstand versetzt man mit $2^1/_2$—$3\,cm^3$ $40^0/_0$iger Schwefelsäure und gibt unter Umrühren mit einem Pistill so viel fein gepulvertes, wasserfreies Natriumsulfat hinzu, bis ein lockeres, trockenes Pulver entsteht, mit dem eine *Schleicher*sche Papierhülse beschickt wird. Diese wird in einem *Soxhlet*-Apparat 6 Stunden mit Äther extrahiert, wodurch Äpfelsäure und Bernsteinsäure vollständig in Lösung gehen. Man unterbricht dann die Extraktion, setzt zu der ätherischen Säurelösung 10—$20\,cm^3$ Wasser und destilliert den Äther ab. Die letzten Anteile läßt man am zweckmäßigsten an einem mäßig warmen Orte verdunsten. Die zurückbleibende, wässerige Lösung wird mit 1—$3\,g$ Tierkohle, welche vorher durch Behandeln mit Säuren gereinigt worden ist, versetzt und eine Stunde auf dem Wasserbade erwärmt. Hierauf filtriert man die so von Gerbstoff befreite Flüssigkeit in eine Platinschale und wäscht das Filter mit heißem Wasser aus. Das Filtrat wird mit einem Tropfen Phenolphtaleïnlösung versetzt und mit einer Lauge von bekanntem Titer genau neutralisiert. Hierauf dampft man auf dem Wasserbad zur Trockene und verascht unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln. Die Asche wird mit einer gemessenen Menge von $^1/_{10}$-Normalsalzsäure im Überschuß versetzt, auf dem Wasserbade kurze Zeit erhitzt, und der Überschuß an Säure mit $^1/_{10}$-Normallauge zurücktitriert.

Entsprach die Alkalität von $50\,cm^3$ Wein $a\,cm^3$ $^1/_{10}$-Normalsalzsäure und hat man vorher gefunden, daß $100\,cm^3$ Wein $y\,g$ Bernsteinsäure enthalten, so würde ihr veraschtes Salz zur Neutralisation:

$$\frac{1000\,y}{5{\cdot}9}\ cm^3\ ^1/_{10}\text{-Normalsalzsäure verbrauchen.}$$

Die Asche des apfelsauren Alkalis aus $100\,cm^3$ Wein erfordert mithin zur Neutralisation:

$$\left(2\,a - \frac{1000\,y}{5{\cdot}9}\right) cm^3 \ ^1/_{10}\text{-Normalsalzsäure;}$$

Dann beträgt die Säuremenge:

$$\left(2\,a - \frac{1000\,y}{5{\cdot}9}\right) \frac{6{\cdot}7}{1000} = (0{\cdot}0134\,a - 1{\cdot}1373\,y)\,g$$

Apfelsäure.

20. Bestimmung der schwefligen Säure.

Zur Bestimmung der schwefligen Säure bedient man sich folgender Vorrichtung:

Ein Destillierkölbchen von 400 cm^3 Inhalt wird mit einem zweimal durchbohrten Stopfen verschlossen, durch welchen zwei Glasröhren in das Innere des Kolbens führen. Die erste Röhre reicht bis auf den Boden des Kolbens, die zweite nur bis in den Hals. Die letztere Röhre führt zu einem *Liebig*schen Kühler; an diesen schließt sich luftdicht mittelst durchbohrten Stopfens eine kugelig aufgeblasene U-Röhre (sog. *Peligot*sche Röhre).

Man leitet durch das bis auf den Boden des Kolbens führende Rohr Kohlensäure, bis alle Luft aus dem Apparate verdrängt ist, bringt dann in die *Peligot*sche Röhre 50 cm^3 Jodlösung (erhalten durch Auflösen von 5 *g* reinem Jod und 7·5 *g* Jodkalium in Wasser zu 1 *l*), lüftet den Stopfen des Destillierkolbens und läßt 100 cm^3 Wein aus einer Pipette in den Kolben fließen, ohne das Einströmen der Kohlensäure zu unterbrechen. Nachdem noch 5 *g* sirupdicke Phosphorsäure zugegeben sind, erhitzt man den Wein vorsichtig und destilliert ihn unter stetigem Durchleiten von Kohlensäure zur Hälfte ab.

Man bringt nunmehr die Jodlösung, die noch braun gefärbt sein muß, in ein Becherglas, spült die *Peligot*sche Röhre gut mit Wasser aus, setzt etwas Salzsäure zu, erhitzt das Ganze kurze Zeit und fällt die durch Oxydation der schwefligen Säure entstandene Schwefelsäure mit Chlorbaryum. Der Niederschlag von Baryumsulfat wird genau in der unter Nr. 5 vorgeschriebenen Weise weiter behandelt.

Berechnung: Wurden a Gramm Baryumsulfat gewogen, so sind:
$x = 0{\cdot}2748\,a$ Gramm schweflige Säure (SO_2) in 100 cm^3 Wein.

Anmerkung 1: Der Gesamtgehalt der Weine an schwefliger Säure kann auch nach dem folgenden Verfahren bestimmt werden. Man bringt in ein Kölbchen von ungefähr 200 cm^3 Inhalt 25 cm^3 Kalilauge, die etwa 56 *g* Kaliumhydrat im Liter enthält, und läßt 50 cm^3 Wein so zu der Lauge fließen, daß die Pipettenspitze während des Auslaufens in die Kalilauge taucht. Nach mehrmaligem vorsichtigen Umschwenken läßt man die Mischung 15 Minuten stehen. Hierauf fügt man zu der alkalischen Flüssigkeit 10 cm^3 verdünnte Schwefelsäure (erhalten durch Mischen von 1 Teil Schwefelsäure mit 3 Teilen Wasser) und einige Kubikzentimeter Stärkelösung und titriert die Flüssigkeit mit $^1/_{50}$-Normaljodlösung; man läßt die Jodlösung hierbei rasch, aber vorsichtig so lange zutropfen, bis die blaue Farbe der Jodstärke nach vier- bis fünfmaligem Umschwenken noch kurze Zeit anhält.

Berechnung der gesamten schwefligen Säure. Wurden auf 50 cm^3 Wein a cm^3 $^1/_{50}$-Normaljodlösung verbraucht, so sind enthalten:

x = 0·00128 a Gramm gesamte schweflige Säure (SO_2) in 100 cm^3 Wein.

Zufolge neuerer Erfahrungen ist ein Teil der schwefligen Säure im Weine organisch gebunden, ein anderer im freien Zustande oder als Alkalibisulfit im Weine vorhanden. Die Bestimmung der freien schwefligen Säure geschieht nach folgendem Verfahren. Man leitet durch ein Kölbchen von etwa 100 cm^3 Inhalt 10 Minuten lang Kohlensäure, entnimmt dann aus der frisch entkorkten Flasche mit einer Pipette 50 cm^3 Wein und läßt diese in das mit Kohlensäure gefüllte Gläschen fließen. Nach Zusatz von 5 cm^3 verdünnter Schwefelsäure wird die Flüssigkeit in der vorher beschriebenen Weise mit $^1/_{50}$-Normaljodlösung titriert.

Berechnung der freien schwefligen Säure. Wurden auf 50 cm^3 Wein a Kubikzentimeter $^1/_{50}$-Normaljodlösung verbraucht, so sind enthalten:

x = 0·00128 a Gramm freie schweflige Säure (SO_2) in 100 cm^3 Wein.

Der Unterschied der gesamten schwefligen Säure und der freien schwefligen Säure ergibt den Gehalt des Weines an schwefliger Säure, die an organische Weinbestandteile gebunden ist.

Anmerkung 2. Wurde der Gesamtgehalt an schwefliger Säure nach dem in der Anmerkung 1 beschriebenen Verfahren bestimmt, so ist dies anzugeben. Es ist wünschenswert, daß in jedem Falle die freie beziehungsweise die an organische Bestandteile gebundene schweflige Säure bestimmt wird.

21. Bestimmung des Saccharins.

Man verdampft 100 cm^3 Wein unter Zusatz von ausgewaschenem, grobem Sande in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade, versetzt den Rückstand mit 1—2 cm^3 einer 30%igen Phosphorsäurelösung und zieht ihn unter beständigem Auflockern mit einer Mischung von gleichen Raumteilen Äther und Petroleumäther bei mäßiger Wärme aus. Man filtriert die Auszüge durch gereinigten Asbest in einen Kolben und fährt mit dem Ausziehen fort, bis man 200—250 cm^3 Filtrat erhalten hat. Hierauf destilliert man den größten Teil der Äther-Petroleumäthermischung im Wasserbade ab, führt den Rest aus dem Kolben in eine Porzellanschale über, spült den Kolben mit Äther gut nach, verjagt dann Äther und Petroleumäther völlig und nimmt den Rückstand mit einer verdünnten Lösung von Natriumkarbonat auf. Man filtriert die Lösung in eine Platinschale, verdampft sie zur Trockene, mischt den Trockenrückstand mit der vier- bis fünffachen Menge festem Natriumkarbonat und trägt dieses Gemisch allmählich in schmelzenden Kalisalpeter ein. Man löst die weiße Schmelze in Wasser, säuert sie vorsichtig (mit aufgelegtem Uhrglase) in einem Becherglase mit Salzsäure an und fällt die aus dem Saccharin entstandene Schwefelsäure mit Chlorbaryum in der unter Nr. 5 vorgeschriebenen Weise.

Berechnung. Wurden bei der Verarbeitung von 100 cm^3 Wein a Gramm Baryumsulfat gewonnen, so sind enthalten:

x = 0·7857 a Gramm Saccharin in 100 cm^3 Wein.

22. Nachweis von Salizylsäure.

50 cm^3 Wein werden in einem zylindrischen Scheidetrichter mit 50 cm^3 eines Gemisches aus gleichen Raumteilen Äther und Petroleumäther versetzt und mit der Vorsicht häufig umgeschüttelt, daß keine Emulsion entsteht, aber doch eine genügende Mischung der Flüssigkeiten stattfindet. Hierauf hebt man die Äther-Petroleumätherschicht ab, filtriert sie durch ein trockenes Filter, verdunstet das Äthergemisch auf dem Wasserbade und versetzt den Rückstand mit einigen Tropfen Eisenchloridlösung. Eine rotviolette Färbung zeigt die Gegenwart von Salizylsäure an.

Entsteht dagegen eine schwarze oder dunkelbraune Färbung, so versetzt man die Mischung mit einem Tropfen Salzsäure, nimmt sie mit Wasser auf, schüttelt die Lösung mit Äther-Petroleumäther aus und verfährt mit dem Auszug nach der oben gegebenen Vorschrift.

23. Nachweis von arabischem Gummi und Dextrin.

Man versetzt 4 cm^3 Wein mit 10 cm^3 Alkohol von 96 Maßprozent. Entsteht hierbei nur eine geringe Trübung, welche sich in Flocken absetzt, so ist weder Gummi noch Dextrin zugegen. Entsteht dagegen ein klumpiger, zäher Niederschlag, der zum Teil zu Boden fällt, zum Teil an den Wandungen des Gefäßes hängen bleibt, so muß der Wein nach dem folgenden Verfahren geprüft werden.

100 cm^3 Wein werden auf etwa 5 cm^3 eingedampft und unter Umrühren so lange mit Alkohol von 90 Maßprozent versetzt, als noch ein Niederschlag entsteht. Nach 2 Stunden filtriert man den Niederschlag ab, löst ihn in 30 cm^3 Wasser und führt die Lösung in ein Kölbchen von etwa 100 cm^3 Inhalt über. Man fügt 1 cm^3 Salzsäure vom spez. Gew. 1·12 hinzu, verschließt das Kölbchen mit einem Stopfen, durch welches ein 1 *m* langes, beiderseits offenes Rohr führt und erhitzt das Gemisch 3 Stunden im kochenden Wasserbade. Nach dem Erkalten wird die Flüssigkeit mit Sodalösung alkalisch gemacht, auf ein bestimmtes Maß verdünnt und der entstandene Zucker mit *Fehling*scher Lösung nach dem unter Nr. 10 beschriebenen Verfahren bestimmt. Der Zucker ist aus zugesetztem Dextrin oder arabischem Gummi gebildet worden; Weine ohne diese Zusätze geben, in der beschriebenen Weise behandelt, höchstens Spuren einer Zuckerreaktion.

24. Bestimmung des Gerbstoffes.

a) Schätzung des Gerbstoffgehaltes.

In 100 cm^3 von Kohlensäure befreitem Weine werden die freien Säuren mit einer titrierten Alkalilösung bis auf 0·5 *g* in 100 cm^3 Wein abgestumpft, sofern die Bestimmung nach Nr. 6 einen höheren Betrag ergeben hat. Nach Zugabe von 1 cm^3 einer 40%igen Natriumazetatlösung läßt man eine 10%ige Eisenchloridlösung tropfenweise so lange hinzufließen, bis kein

Niederschlag mehr entsteht. 1 Tropfen der 10%igen Eisenchloridlösung genügt zur Ausfällung von 0·05 *g* Gerbstoff. (Siehe Nr. 14.)

b) Bestimmung des Gerbstoffgehaltes.

Die Bestimmung des Gerbstoffes kann nach einem der üblichen Verfahren erfolgen: das angewandte Verfahren ist in jedem Falle anzugeben.

25. Bestimmung des Chlors.

Man läßt 50 *cm*³ Wein aus einer Pipette in ein Becherglas fließen, macht mit einer Lösung von Natriumkarbonat alkalisch und erwärmt das Gemisch mit aufgedecktem Uhrglase bis zum Aufhören der Kohlensäureentwicklung. Den Inhalt des Becherglases bringt man in eine Platinschale, dampft ihn ein, verkohlt den Rückstand und verascht genau in der bei der Bestimmung der Mineralbestandteile (Nr. 4) angegebenen Weise. Die Asche wird mit einem Tropfen Salpetersäure befeuchtet, mit warmem Wasser ausgezogen, die Lösung in ein Becherglas filtriert und unter Umrühren solange mit Silbernitratlösung (1 Teil Silbernitrat in 20 Teilen Wasser gelöst) versetzt, als noch ein Niederschlag entsteht. Man erhitzt das Gemisch kurze Zeit im Wasserbade, läßt es an einem dunklen Ort erkalten, sammelt den Niederschlag auf einem Filter von bekanntem Aschengehalte, wäscht ihn mit heißem Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaktion aus und trocknet auf dem Filter bei 100° C. Das Filter wird in einem gewogenen Porzellantiegel mit Deckel verbrannt. Nach dem Erkalten benetzt man das Chlorsilber mit einem Tropfen Salzsäure, erhitzt vorsichtig mit aufgelegtem Deckel, bis die Säure verjagt ist, steigert hierauf die Hitze bis zum beginnenden Schmelzen, läßt das Ganze im Exsikkator erkalten und wägt.

Berechnung: Wurden aus 50 *cm*³ Wein a Gramm Chlorsilber erhalten, so sind enthalten:

x = 0·4945 a Gramm Chlor in 100 *cm*³ Wein oder
y = 0·816 a Gramm Chlornatrium in 100 *cm*³ Wein.

26. Bestimmung der Phosphorsäure.

50 *cm*³ Wein werden in einer Platinschale mit 0·5—1 *g* eines Gemisches von 1 Teil Salpeter und 3 Teilen Soda versetzt und zur dickflüssigen Beschaffenheit verdampft. Der Rückstand wird verkohlt, die Kohle mit verdünnter Salpetersäure ausgezogen, der Auszug abfiltriert, die Kohle wiederholt ausgewaschen und schließlich mit dem Filter verascht. Die Asche wird mit Salpetersäure befeuchtet, mit heißem Wasser aufgenommen und zu dem Auszuge in ein Becherglas von 200 *cm*³ Inhalt filtriert. Zu der Lösung setzt man ein Gemisch[1] von 25 *cm*³ Molybdänlösung (150 *g* Ammoniummolybdat in 1%igem Ammoniak zu 1 *l* gelöst) und 25 *cm*³ Salpetersäure vom spez. Gew. 1·2 und erwärmt auf einem Wasserbade auf

[1]) Die Molybdänlösung ist in die Salpetersäure zu gießen, nicht umgekehrt, da sich sonst Molybdänsäure abscheidet, die nur schwer wieder in Lösung zu bringen ist.

80° C, wobei ein gelber Niederschlag von Ammoniumphosphomolybdat entsteht. Man stellt die Mischung 6 Stunden an einen warmen Ort, gießt dann die über dem Niederschlage stehende klare Flüssigkeit durch ein Filter, wäscht den Niederschlag 4—5mal mit einer verdünnten Molybdänlösung (hergestellt durch Vermischen von 100 Raumteilen der oben angegebenen Molybdänlösung mit 20 Raumteilen Salpetersäure vom spez. Gew. 1·2 und 80 Raumteilen Wasser), indem man stets den Niederschlag absitzen läßt und die klare Flüssigkeit durch das Filter gießt. Dann löst man den Niederschlag im Becherglase in konzentriertem Ammoniak auf und filtriert durch dasselbe Filter, durch welches vorher die Waschwässer filtriert wurden. Man wäscht das Becherglas und das Filter mit Ammoniak aus und versetzt das Filtrat vorsichtig unter Umrühren mit Salzsäure, solange der dadurch entstehende Niederschlag sich noch löst. Nach dem Erkalten fügt man 5 *cm*³ Magnesiamischung (68 *g* Chlormagnesium und 165 *g* Chlorammonium in Wasser gelöst, mit 260 *cm*³ Ammoniak vom spez. Gew. 0·96 versetzt und auf 1 *l* aufgefüllt) zu und rührt mit einem Glasstabe um, ohne die Wandung des Becherglases zu berühren. Den entstehenden kristallinischen Niederschlag von Ammonium-Magnesiumphosphat läßt man nach Zusatz von 40 *cm*³ Ammoniaklösung 24 Stunden bedeckt stehen. Hierauf filtriert man das Gemisch durch ein Filter von bekanntem Aschengehalte und wäscht den Niederschlag mit verdünntem Ammoniak (1 Teil Ammoniak vom spez. Gew. 0·96 und 3 Teilen Wasser) aus, bis das Filtrat in einer mit Salpetersäure angesäuerten Silberlösung keine Trübung mehr hervorbringt. Der Niederschlag wird auf dem Filter getrocknet und dieses in einem gewogenen Platintiegel verbrannt. Nach dem Erkalten befeuchtet man den aus Magnesiumpyrophosphat bestehenden Tiegelinhalt mit Salpetersäure, verdampft diese mit kleiner Flamme, glüht den Tiegel stark, läßt im Exsikkator erkalten und wägt.

Berechnung: Wurden aus 50 *cm*³ Wein a Gramm Magnesiumpyrophosphat erhalten, so sind enthalten:

x = 1·2751 a Gramm Phosphorsäureanhydrid (P_2O_5) in 100 *cm*³ Wein.

27. Nachweis der Salpetersäure.

1. In Weißweinen.

a) 10 *cm*³ Wein werden entgeistet, mit Tierkohle entfärbt und filtriert. Einige Tropfen des Filtrates läßt man in ein Porzellanschälchen, in welchem einige Körnchen Diphenylamin mit 1 *cm*³ konzentrierter Schwefelsäure übergossen worden sind, so einfließen, daß sich die beiden Flüssigkeiten übereinander lagern. Tritt an der Berührungsstelle eine blaue Färbung auf, so ist Salpetersäure in dem Weine enthalten.

b) Zum Nachweis kleinerer Mengen von Salpetersäure, welche bei der Prüfung nach 1 *a* nicht mehr erkannt werden, verdampft man 100 *cm*³ Wein in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade zum dünnen Sirup und fügt nach dem Erkalten so lange absoluten Alkohol zu, als noch ein Niederschlag entsteht. Man filtriert, verdampft das Filtrat, bis der Alkohol

Tafel 1.

Ermittelung des Alkoholgehaltes.

Aus *K. Windisch*, Alkoholtafel. Berlin 1893.

Spezifisches Gewicht des Destillates	Gramm Alkohol in 100 cm^3	Volumprozente Alkohol	Spezifisches Gewicht des Destillates	Gramm Alkohol in 100 cm^3	Volumprozente Alkohol
1·0000	0·00	0·00			
0·9999	0·05	0·07	0·9964	1·93	2·44
8	0·11	0·13	3	1·99	2·51
7	0·16	0·20	2	2·04	2·58
6	0·21	0·27	1	2·10	2·65
5	0·26	0·33	0	2·16	2·72
4	0·32	0·40			
3	0·37	0·47	0·9959	2·21	2·79
2	0·42	0·53	8	2·27	2·86
1	0·47	0·60	7	2·32	2·93
0	0·53	0·67	6	2·38	3·00
			5	2·43	3·07
0·9989	0·58	0·73	4	2·49	3·14
8	0·64	0·80	3	2·55	3·21
7	0·69	0·87	2	2·60	3·28
6	0·74	0·93	1	2·66	3·35
5	0·80	1·00	0	2·72	3·42
4	0·85	1·07			
3	0·90	1·14	0·9949	2·77	3·49
2	0·96	1·20	8	2·82	3·56
1	1·01	1·27	7	2·88	3·64
0	1·06	1·34	6	2·94	3·71
			5	3·00	3·78
0·9979	1·12	1·41	4	3·06	3·85
8	1·17	1·48	3	3·12	3·93
7	1·22	1·54	2	3·17	4·00
6	1·28	1·61	1	3·23	4·07
5	1·33	1·68	0	3·29	4·14
4	1·39	1·75			
3	1·44	1·82	0·9939	3·35	4·22
2	1·50	1·88	8	3·40	4·29
1	1·55	1·95	7	3·46	4·36
0	1·60	2·02	6	3·52	4·43
			5	3·58	4·51
0·9969	1·66	2·09	4	3·64	4·58
8	1·71	2·16	3	3·69	4·65
7	1·77	2·23	2	3·75	4·73
6	1·82	2·30	1	3·81	4·80
5	1·88	2·37	0	3·87	4·88

Spezifisches Gewicht des Destillates	Gramm Alkohol in 100 cm^3	Volumprozente Alkohol	Spezifisches Gewicht des Destillates	Gramm Alkohol in 100 cm^3	Volumprozente Alkohol
0·9929	3·93	4·95	0·9889	6·40	8·07
8	3·99	5·03	8	6·47	8·15
7	4·05	5·10	7	6·53	8·23
6	4·11	5·18	6	6·59	8·31
5	4·17	5·25	5	6·66	8·40
4	4·23	5·33	4	6·73	8·48
3	4·29	5·40	3	6·79	8·56
2	4·35	5·48	2	6·86	8·64
1	4·41	5·55	1	6·93	8·73
0	4·47	5·63	0	6·99	8·81
0·9919	4·53	5·70	0·9879	7·06	8·89
8	4·59	5·78	8	7·12	8·98
7	4·65	5·86	7	7·19	9·06
6	4·71	5·93	6	7·26	9·15
5	4·77	6·01	5	7·33	9·23
4	4·83	6·09	4	7·39	9·32
3	4·89	6·16	3	7·46	9·40
2	4·95	6·24	2	7·53	9·48
1	5·01	6·32	1	7·60	9·57
0	5·08	6·40	0	7·66	9·66
0·9909	5·14	6·47	9·9869	7·73	9·74
8	5·20	6·55	8	7·80	9·83
7	5·26	6·63	7	7·87	9·91
6	5·32	6·71	6	7·94	10·00
5	5·38	6·79	5	8·00	10·09
4	5·45	6·86	4	8·07	10·17
3	5·51	6·94	3	8·14	10·26
2	5·57	7·02	2	8·21	10·35
1	5·64	7·10	1	8·28	10·43
0	5·70	7·18	0	8·35	10·52
0·9899	5·76	7·26	9·9859	8·42	10·61
8	5·83	7·34	8	8·49	10·70
7	5·89	7·42	7	8·56	10·79
6	5·95	7·50	6	8·63	10·88
5	6·02	7·58	5	8·70	10·96
4	6·08	7·66	4	8·77	11·05
3	6·14	7·74	3	8·84	11·14
2	6·21	7·82	2	8·91	11·23
1	6·27	7·90	1	8·98	11·32
0	6·34	7·99	0	9·06	11·41

Spezifisches Gewicht des Destillates	Gramm Alkohol in 100 cm^3	Volumprozente Alkohol	Spezifisches Gewicht des Destillates	Gramm Alkohol in 100 cm^3	Volumprozente Alkohol
0·9849	9·13	11·50	0·9809	12·11	15·26
8	9·20	11·59	8	12·19	15·36
7	9·27	11·68	7	12·27	15·46
6	9·34	11·77	6	12·34	15·55
5	9·42	11·86	5	12·42	15·65
4	9·49	11·95	4	12·50	15·75
3	9·56	12·05	3	12·58	15·85
2	9·63	12·14	2	12·65	15·95
1	9·70	12·23	1	12·73	16·04
0	9·78	12·32	0	12·81	16·14
0·9839	9·85	12·41	0·9799	12·89	16·24
8	9·92	12·50	8	12·97	16·34
7	9·99	12·59	7	13·05	16·44
6	10·07	12·69	6	13·13	16·54
5	10·14	12·78	5	13·20	16·64
4	10·22	12·88	4	13·28	16·74
3	10·29	12·97	3	13·36	16·84
2	10·36	13·06	2	13·44	16·94
1	10·44	13·16	1	13·52	17·04
0	10·52	13·25	0	13·60	17·14
0·9829	10·59	13·34	0·9789	13·68	17·24
8	10·66	13·44	8	13·76	17·34
7	10·74	13·53	7	13·84	17·44
6	10·81	13·63	6	13·92	17·54
5	10·89	13·72	5	14·00	17·64
4	10·96	13·82	4	14·08	17·74
3	11·04	13·91	3	14·15	17·84
2	11·12	14·01	2	14·23	17·94
1	11·19	14·10	1	14·31	18·04
0	11·27	14·20	0	14·39	18·14
0·9819	11·34	14·29	0·9779	14·47	18·24
8	11·42	14·39	8	14·55	18·34
7	11·49	14·48	7	14·63	18·44
6	11·57	14·58	6	14·71	18·54
5	11·65	14·68	5	14·79	18·64
4	11·72	14·77	4	14·87	18·74
3	11·80	14·87	3	14·95	18·84
2	11·88	14·97	2	15·03	18·94
1	11·96	15·07	1	15·11	19·04
0	12·03	15·16	0	15·19	19·14

Spezifisches Gewicht des Destillates	Gramm Alkohol in 100 cm^3	Volumprozente Alkohol	Spezifisches Gewicht des Destillates	Gramm Alkohol in 100 cm^3	Volumprozente Alkohol
0·9769	15·27	19·24	0·9729	18·45	23·24
8	15·35	19·34	8	18·52	23·34
7	15·43	19·44	7	18·60	23·44
6	15·51	19·55	6	18·68	23·54
5	15·59	19·65	5	18·76	23·63
4	15·67	19·75	4	18·84	23·73
3	15·75	19·85	3	18·91	23·83
2	15·83	19·95	2	18·99	23·93
1	15·91	20·05	1	19·07	24·02
0	15·99	20·15	0	19·14	24·12
0·9759	16·07	20·25	0·9719	19·22	24·22
8	16·15	20·35	8	19·30	24·32
7	16·23	20·45	7	19·37	24·41
6	16·31	20·55	6	19·45	24·51
5	16·39	20·65	5	19·53	24·60
4	16·47	20·75	4	19·60	24·70
3	16·55	20·86	3	19·68	24·80
2	16·63	20·96	2	19·76	24·89
1	16·71	21·06	1	19·83	24·99
0	16·79	21·16	0	19·91	25·08
0·9749	16·87	21·26	0·9709	19·98	25·18
8	16·95	21·36	8	20·06	25·27
7	17·03	21·46	7	20·13	25·37
6	17·11	21·56	6	20·21	25·47
5	17·19	21·66	5	20·28	25·56
4	17·27	21·76	4	20·36	25·66
3	17·35	21·86	3	20·43	25·75
2	17·42	21·96	2	20·51	25·84
1	17·50	22·06	1	20·58	25·94
0	17·58	22·16	0	20·66	26·03
0·9739	17·66	22·26	0·9699	20·73	26·13
8	17·74	22·35	8	20·81	26·22
7	17·82	22·45	7	20·88	26·31
6	17·90	22·55	6	20·96	26·41
5	17·98	22·65	5	21·03	26·50
4	18·05	22·75	4	21·10	26·59
3	18·13	22·85	3	21·18	26·69
2	18·21	22·95	2	21·25	26·78
1	18·29	23·05	1	21·32	26·87
0	18·37	23·14	0	21·40	26·96

Spezifisches Gewicht des Destillates	Gramm Alkohol in 100 cm^3	Volumprozente Alkohol	Spezifisches Gewicht des Destillates	Gramm Alkohol in 100 cm^3	Volumprozente Alkohol
0·9689	21·47	27·05	0·9649	24·26	30·57
8	21·54	27·14	8	24·33	30·66
7	21·61	27·24	7	24·39	30·74
6	21·69	27·33	6	24·46	30·82
5	21·76	27·42	5	24·53	30·91
4	21·83	27·51	4	24·59	30·99
3	21·90	27·60	3	24·66	31·07
2	21·97	27·69	2	24·73	31·16
1	22·05	27·78	1	24·79	31·24
0	22·12	27·87	0	24·85	31·32
0·9679	22·19	27·96	0·9639	24·92	31·41
8	22·26	28·05	8	24·99	31·49
7	22·33	28·14	7	25·05	31·57
6	22·40	28·23	6	25·12	31·65
5	22·47	28·32	5	25·18	31·73
4	22·54	28·41	4	25·25	31·81
3	22·61	28·50	3	25·31	31·89
2	22·68	28·59	2	25·37	31·98
1	22·75	28·67	1	25·44	32·06
0	22·82	28·76	0	25·50	32·14
0·9669	22·89	28·85	0·9629	25·56	32·22
8	22·96	28·94	8	25·63	32·30
7	23·03	29·03	7	25·69	32·38
6	23·10	29·11	6	25·76	32·46
5	23·17	29·20	5	25·82	32·54
4	23·24	29·29	4	25·88	32·62
3	23·31	29·38	3	25·95	32·70
2	23·38	29·46	2	26·01	32·78
1	23·45	29·55	1	26·07	32·85
0	23·52	29·64	0	26·13	32·93
0·9659	23·59	29·72			
8	23·65	29·81			
7	23·72	29·89			
6	23·79	29·98			
5	23·86	30·06			
4	23·93	30·15			
3	23·99	30·23			
2	24·06	30·32			
1	24·13	30·40			
0	24·19	30·49			

Tafel 2.

(Zur Ermittelung der Zahl E, welche für die Wahl des bei der Extraktbestimmung des Weines anzuwendenden Verfahrens maßgebend ist.)

Nach den Angaben der Kaiserlichen Normal-Eichungs-Kommission berechnet im Kaiserlichen Gesundheitsamt.

x	E	x	E	x	E	x	E
1·0000	0·00	1·0035	0·90	1·0070	1·81	1·0105	2·71
1	0·03	6	0·93	1	1·83	6	2·74
2	0·05	7	0·95	2	1·86	7	2·76
3	0·08	8	0·98	3	1·88	8	2·79
4	0·10	9	1·00	4	1·91	9	2·82
5	0·13	1·0040	1·03	5	1·94	1·0110	2·84
6	0·15	1	1·05	6	1·96	1	2·87
7	0·18	2	1·08	7	1·99	2	2·89
8	0·20	3	1·11	8	2·01	3	2·92
9	0·23	4	1·13	9	2·04	4	2·94
1·0010	0·26	5	1·16	1·0080	2·07	5	2·97
1	0·28	6	1·18	1	2·09	6	3·00
2	0·31	7	1·21	2	2·12	7	3·02
3	0·34	8	1·24	3	2·14	8	3·05
4	0·36	9	1·26	4	2·17	9	3·07
5	0·39	1·0050	1·29	5	2·19	1·0120	3·10
6	0·41	1	1·32	6	2·22	1	3·12
7	0·44	2	1·34	7	2·25	2	3·15
8	0·46	3	1·37	8	2·27	3	3·18
9	0·49	4	1·39	9	2·30	4	3·20
1·0020	0·52	5	1·42	1·0090	2·32	5	3·23
1	0·54	6	1·45	1	2·35	6	3·26
2	0·57	7	1·47	2	2·38	7	3·28
3	0·59	8	1·50	3	2·40	8	3·31
4	0·62	9	1·52	4	2·43	9	3·33
5	0·64	1·0060	1·55	5	2·45	1·0130	3·36
6	0·67	1	1·57	6	2·48	1	3·38
7	0·69	2	1·60	7	2·50	2	3·41
8	0·72	3	1·63	8	2·53	3	3·43
9	0·75	4	1·65	9	2·56	4	3·46
1·0030	0·77	5	1·68	1·0100	2·58	5	3·49
1	0·80	6	1·70	1	2·61	6	3·51
2	0·82	7	1·73	2	2·63	7	3·54
3	0·85	8	1·76	3	2·66	8	3·56
4	0·87	9	1·78	4	2·69	9	3·59

x	E	x	E	x	E	x	E
1·0140	3·62	1·0180	4·65	1·0220	5·69	1·0260	6·72
1	3·64	1	4·68	1	5·71	1	6·75
2	3·67	2	4·70	2	5·74	2	6·77
3	3·69	3	4·73	3	5·77	3	6·80
4	3·72	4	4·75	4	5·79	4	6·82
5	3·75	5	4·78	5	5·82	5	6·85
6	3·77	6	4·81	6	5·84	6	6·88
7	3·80	7	4·83	7	5·87	7	6·90
8	3·82	8	4·86	8	5·89	8	6·93
9	3·85	9	4·88	9	5·92	9	6·95
1·0150	3·87	1·0190	4·91	1·0230	5·94	1·0270	6·98
1	3·90	1	4·94	1	5·97	1	7·01
2	3·93	2	4·96	2	6·00	2	7·03
3	3·95	3	4·99	3	6·02	3	7·06
4	3·98	4	5·01	4	6·05	4	7·08
5	4·00	5	5·04	5	6·07	5	7·11
6	4·03	6	5·06	6	6·10	6	7·13
7	4·06	7	5·09	7	6·12	7	7·16
8	4·08	8	5·11	8	6·15	8	7·19
9	4·11	9	5·14	9	6·18	9	7·21
1·0160	4·13	1·0200	5·17	1·0240	6·20	1·0280	7·24
1	4·16	1	5·19	1	6·23	1	7·26
2	4·19	2	5·22	2	6·25	2	7·29
3	4·21	3	5·25	3	6·28	3	7·32
4	4·24	4	5·27	4	6·31	4	7·34
5	4·26	5	5·30	5	6·33	5	7·37
6	4·29	6	5·32	6	6·36	6	7·39
7	4·31	7	5·35	7	6·38	7	7·42
8	4·34	8	5·38	8	6·41	8	7·45
9	4·37	9	5·40	9	6·44	9	7·47
1·0170	4·39	1·0210	5·43	1·0250	6·46	1·0290	7·50
1	4·42	1	5·45	1	6·49	1	7·52
2	4·44	2	5·48	2	6·51	2	7·55
3	4·47	3	5·51	3	6·54	3	7·58
4	4·50	4	5·53	4	6·56	4	7·60
5	4·52	5	5·56	5	6·59	5	7·63
6	4·55	6	5·58	6	6·62	6	7·65
7	4·57	7	5·61	7	6·64	7	7·68
8	4·60	8	5·64	8	6·67	8	7·70
9	4·63	9	5·66	9	6·70	9	7·73

x	E	x	E	x	E	x	E
1·0300	7·76	1·0340	8·79	1·0380	9·83	1·0420	10·87
1	7·78	1	8·82	1	9·86	1	10·90
2	7·81	2	8·85	2	9·88	2	10·92
3	7·83	3	8·87	3	9·91	3	10·95
4	7·86	4	8·90	4	9·93	4	10·97
5	7·89	5	8·92	5	9·96	5	11·00
6	7·91	6	8·95	6	9·99	6	11·03
7	7·94	7	8·97	7	10·01	7	11·05
8	7·97	8	9·00	8	10·04	8	11·08
9	7·99	9	9·03	9	10·06	9	11·10
1·0310	8·02	1·0350	9·05	1·0390	10·09	1·0430	11·13
1	8·04	1	9·08	1	10·11	1	11·15
2	8·07	2	9·10	2	10·14	2	11·18
3	8·09	3	9·13	3	10·17	3	11·21
4	8·12	4	9·16	4	10·19	4	11·23
5	8·14	5	9·18	5	10·22	5	11·26
6	8·17	6	9·21	6	10·25	6	11·28
7	8·20	7	9·23	7	10·27	7	11·31
8	8·22	8	9·26	8	10·30	8	11·34
9	8·25	9	9·29	9	10·32	9	11·36
1·0320	8·27	1·0360	9·31	1·0400	10·35	1·0440	11·39
1	8·30	1	9·34	1	10·37	1	11·42
2	8·33	2	9·36	2	10·40	2	11·44
3	8·35	3	9·39	3	10·43	3	11·47
4	8·38	4	9·42	4	10·45	4	11·49
5	8·40	5	9·44	5	10·48	5	11·52
6	8·43	6	9·47	6	10·51	6	11·55
7	8·46	7	9·49	7	10·53	7	11·57
8	8·48	8	9·52	8	10·56	8	11·60
9	8·51	9	9·55	9	10·58	9	11·62
1·0330	8·53	1·0370	9·57	1·0410	10·61	1·0450	11·65
1	8·56	1	9·60	1	10·63	1	11·68
2	8·59	2	9·62	2	10·66	2	11·70
3	8·61	3	9·65	3	10·69	3	11·73
4	8·64	4	9·68	4	10·71	4	11·75
5	8·66	5	9·70	5	10·74	5	11·78
6	8·69	6	9·73	6	10·76	6	11·81
7	8·72	7	9·75	7	10·79	7	11·83
8	8·74	8	9·78	8	10·82	8	11·86
9	8·77	9	9·80	9	10·84	9	11·88

x	E	x	E	x	E	x	E
1·0460	11·91	1·0500	12·95	1·0540	13·99	1·0580	15·03
1	11·94	1	12·97	1	14·01	1	15·06
2	11·96	2	13·00	2	14·04	2	15·08
3	11·99	3	13·03	3	14·07	3	15·11
4	12·01	4	13·05	4	14·09	4	15·14
5	12·04	5	13·08	5	14·12	5	15·16
6	12·06	6	13·10	6	14·14	6	15·19
7	12·09	7	13·13	7	14·17	7	15·22
8	12·12	8	13·16	8	14·20	8	15·24
9	12·14	9	13·18	9	14·22	9	15·27
1·0470	12·17	1·0510	13·21	1·0550	14·25	1·0590	15·29
1	12·19	1	13·23	1	14·28	1	15·32
2	12·22	2	13·26	2	14·30	2	15·35
3	12·25	3	13·29	3	14·33	3	15·37
4	12·27	4	13·31	4	14·35	4	15·40
5	12·30	5	13·34	5	14·38	5	15·42
6	12·32	6	13·36	6	14·41	6	15·45
7	12·35	7	13·39	7	14·43	7	15·48
8	12·38	8	13·42	8	14·46	8	15·50
9	12·40	9	13·44	9	14·48	9	15·53
1·0480	12·43	1·0520	13·47	1·0560	14·51	1·0600	15·55
1	12·45	1	13·49	1	14·54	1	15·58
2	12·48	2	13·52	2	14·56	2	15·61
3	12·51	3	13·55	3	14·59	3	15·63
4	12·53	4	13·57	4	14·61	4	15·66
5	12·56	5	13·60	5	14·64	5	15·68
6	12·58	6	13·62	6	14·67	6	15·71
7	12·61	7	13·65	7	14·69	7	15·74
8	12·64	8	13·68	8	14·72	8	15·76
9	12·66	9	13·70	9	14·74	9	15·79
1·0490	12·69	1·0530	13·73	1·0570	14·77	1·0610	15·81
1	12·71	1	13·75	1	14·80	1	15·84
2	12·74	2	13·78	2	14·82	2	15·87
3	12·77	3	13·81	3	14·85	3	15·89
4	12·79	4	13·83	4	14·87	4	15·92
5	12·82	5	13·86	5	14·90	5	15·94
6	12·84	6	13·89	6	14·93	6	15·97
7	12·87	7	13·91	7	14·95	7	16·00
8	12·90	8	13·94	8	14·98	8	16·02
9	12·92	9	13·96	9	15·00	9	16·05

x	E	x	E	x	E	x	E
1·0620	16·07	1·0660	17·12	1·0700	18·16	1·0740	19·21
1	16·10	1	17·14	1	18·19	1	19·23
2	16·13	2	17·17	2	18·22	2	19·26
3	16·15	3	17·20	3	18·24	3	19·29
4	16·18	4	17·22	4	18·27	4	19·31
5	16·21	5	17·25	5	18·30	5	19·34
6	16·23	6	17·27	6	18·32	6	19·37
7	16·26	7	17·30	7	18·35	7	19·39
8	16·28	8	17·33	8	18·37	8	19·42
9	16·31	9	17·35	9	18·40	9	19·44
1·0630	16·33	1·0670	17·38	1·0710	18·43	1·0750	19·47
1	16·36	1	17·41	1	18·45	1	19·50
2	16·39	2	17·43	2	18·48	2	19·52
3	16·41	3	17·46	3	18·50	3	19·55
4	16·44	4	17·48	4	18·53	4	19·58
5	16·47	5	17·51	5	18·56	5	19·60
6	16·49	6	17·54	6	18·58	6	19·63
7	16·52	7	17·56	7	18·61	7	19·65
8	16·54	8	17·59	8	18·63	8	19·68
9	16·57	9	17·62	9	18·66	9	19·71
1·0640	16·60	1·0680	17·64	1·0720	18·69	1·0760	19·73
1	16·62	1	17·67	1	18·71	1	19·76
2	16·65	2	17·69	2	18·74	2	19·79
3	16·68	3	17·72	3	18·76	3	19·81
4	16·70	4	17·75	4	18·79	4	19·84
5	16·73	5	17·77	5	18·82	5	19·86
6	16·75	6	17·80	6	18·84	6	19·89
7	16·78	7	17·83	7	18·87	7	19·92
8	16·80	8	17·85	8	18·90	8	19·94
9	16·83	9	17·88	9	18·92	9	19·97
1·0650	16·86	1·0690	17·90	1·0730	18·95	1·0770	20·00
1	16·88	1	17·93	1	18·97	1	20·02
2	16·91	2	17·95	2	19·00	2	20·05
3	16·94	3	17·98	3	19·03	3	20·07
4	16·96	4	18·01	4	19·05	4	20·10
5	16·99	5	18·03	5	19·08	5	20·12
6	17·01	6	18·06	6	19·10	6	20·15
7	17·04	7	18·08	7	19·13	7	20·18
8	17·07	8	18·11	8	19·16	8	20·20
9	17·09	9	18·14	9	19·18	9	20·23

x	E	x	E	x	E	x	E
1·0780	20·26	1·0820	21·31	1·0860	22·36	1·0900	23·41
1	20·28	1	21·33	1	22·38	1	23·43
2	20·31	2	21·36	2	22·41	2	23·46
3	20·34	3	21·38	3	22·43	3	23·49
4	20·36	4	21·41	4	22·46	4	23·51
5	20·39	5	21·44	5	22·49	5	23·54
6	20·41	6	21·46	6	22·51	6	23·57
7	20·44	7	21·49	7	22·54	7	23·59
8	20·47	8	21·52	8	22·57	8	23·62
9	20·49	9	21·54	9	22·59	9	23·65
1·0790	20·52	1·0830	21·57	1·0870	22·62	1·0910	23·67
1	20·55	1	21·59	1	22·65	1	23·70
2	20·57	2	21·62	2	22·67	2	23·72
3	20·60	3	21·65	3	22·70	3	23·75
4	20·62	4	21·67	4	22·72	4	23·77
5	20·65	5	21·70	5	22·75	5	23·80
6	20·68	6	21·73	6	22·78	6	23·83
7	20·70	7	21·75	7	22·80	7	23·85
8	20·73	8	21·78	8	22·83	8	23·88
9	20·75	9	21·80	9	22·86	9	23·91
1·0800	20·78	1·0840	21·83	1·0880	22·88	1·0920	23·93
1	20·81	1	21·86	1	22·91	1	23·96
2	20·83	2	21·88	2	22·93	2	23·99
3	20·86	3	21·91	3	22·96	3	24·01
4	20·89	4	21·94	4	22·99	4	24·04
5	20·91	5	21·96	5	23·01	5	24·07
6	20·94	6	21·99	6	23·04	6	24·09
7	20·96	7	22·02	7	23·07	7	24·12
8	20·99	8	22·04	8	23·09	8	24·14
9	21·02	9	22·07	9	23·12	9	24·17
1·0810	21·04	1·0850	22·09	1·0890	23·14	1·0930	24·20
1	21·07	1	22·12	1	23·17	1	24·22
2	21·10	2	22·15	2	23·20	2	24·25
3	21·12	3	22·17	3	23·22	3	24·27
4	21·15	4	22·20	4	23·25	4	24·30
5	21·17	5	22·22	5	23·28	5	24·33
6	21·20	6	22·25	6	23·30	6	24·35
7	21·23	7	22·28	7	23·33	7	24·38
8	21·25	8	22·30	8	23·35	8	24·41
9	21·28	9	22·33	9	23·38	9	24·43

x	E	x	E	x	E	x	E
1·0940	24·46	1·0980	25·51	1·1020	26·56	1·1060	27·62
1	24·49	1	25·54	1	26·59	1	27·65
2	24·51	2	25·56	2	26·62	2	27·67
3	24·54	3	25·59	3	26·64	3	27·70
4	24·57	4	25·62	4	26·67	4	27·72
5	24·59	5	25·64	5	26·70	5	27·75
6	24·62	6	25·67	6	26·72	6	27·78
7	24·64	7	25·70	7	26·75	7	27·80
8	24·67	8	25·72	8	26·78	8	27·83
9	24·70	9	25·75	9	26·80	9	27·86
1·0950	24·72	1·0990	25·78	1·1030	26·83	1·1070	27·88
1	24·75	1	25·80	1	26·85	1	27·91
2	24·78	2	25·83	2	26·88	2	27·93
3	24·80	3	25·85	3	26·91	3	27·96
4	24·83	4	25·88	4	26·93	4	27·99
5	24·85	5	25·91	5	26·96	5	28·01
6	24·88	6	25·93	6	26·99	6	28·04
7	24·91	7	25·96	7	27·01	7	28·07
8	24·93	8	25·99	8	27·04	8	28·09
9	24·96	9	26·01	9	27·07	9	28·12
1·0960	24·99	1·1000	26·04	1·1040	27·09	1·1080	28·15
1	25·01	1	26·06	1	27·12	1	28·17
2	25·04	2	26·09	2	27·15	2	28·20
3	25·07	3	26·12	3	27·17	3	28·22
4	25·09	4	26·14	4	27·20	4	28·25
5	25·12	5	26·17	5	27·22	5	28·28
6	25·14	6	26·20	6	27·25	6	28·30
7	25·17	7	26·22	7	27·27	7	28·33
8	25·20	8	26·25	8	27·30	8	28·36
9	25·22	9	26·27	9	27·33	9	28·38
1·0970	25·25	1·1010	26·30	1·1050	27·35	1·1090	28·41
1	25·28	1	26·33	1	27·38	1	28·43
2	25·30	2	26·35	2	27·41	2	28·46
3	25·33	3	26·38	3	27·43	3	28·49
4	25·36	4	26·41	4	27·46	4	28·51
5	25·38	5	26·43	5	27·49	5	28·54
6	25·41	6	26·46	6	27·51	6	28·57
7	25·43	7	26·49	7	27·54	7	28·59
8	25·46	8	26·51	8	27·57	8	28·62
9	25·49	9	26·54	9	27·59	9	28·65

x	E	x	E	x	E	x	E
1·1100	28·67	1·1113	29·02	1·1126	29·36	1·1139	29·70
1	28·70	4	29·04	7	29·39		
2	28·73	5	29·07	8	29·41	1·1140	29·73
3	28·75	6	29·09	9	29·44	1	29·76
4	28·78	7	29·12			2	29·78
5	28·81	8	29·15	1·1130	29·47	3	29·81
6	28·83	9	29·17	1	29·49	4	29·83
7	28·86			2	29·52	5	29·86
8	28·88	1·1120	29·20	3	29·54	6	29·89
9	28·91	1	29·23	4	29·57	7	29·91
		2	29·25	5	29·60	8	29·94
1·1110	28·94	3	29·28	6	29·62	9	29·96
1	28·96	4	29·31	7	29·65		
2	28·99	5	29·33	8	29·68	1·1150	29·99

Tafel 3.

Ermittelung des Zuckergehaltes.

Aus *E. Wein*, Tabellen zur Zuckerbestimmung. Stuttgart 1888.

Kupfer *g*	Zucker *g*	Kupfer *g*	Zucker *g*	Kupfer *g*	Zucker *g*	Kupfer *g*	Zucker *g*
0·010	0·0061	0·020	0·0110	0·030	0·0160	0·040	0·0209
0·011	0·0066	0·021	0·0115	0·031	0·0165	0·041	0·0214
0·012	0·0071	0·022	0·0120	0·032	0·0170	0·042	0·0219
0·013	0·0076	0·023	0·0125	0·033	0·0175	0·043	0·0224
0·014	0·0081	0·024	0·0130	0·034	0·0180	0·044	0·0229
0·015	0·0086	0·025	0·0135	0·035	0·0185	0·045	0·0234
0·016	0·0090	0·026	0·0140	0·036	0·0189	0·046	0·0239
0·017	0·0095	0·027	0·0145	0·037	0·0194	0·047	0·0244
0·018	0·0100	0·028	0·0150	0·038	0·0199	0·048	0·0249
0·019	0·0105	0·029	0·0155	0·039	0·0204	0·049	0·0254

Kupfer *g*	Zucker *g*	Kupfer *g*	Zucker *g*	Kupfer *g*	Zucker *g*	Kupfer *g*	Zucker *g*
0·050	0·0259	0·090	0·0469	0·130	0·0681	0·170	0·0897
0·051	0·0264	0·091	0·0474	0·131	0·0687	0·171	0·0903
0·052	0·0269	0·092	0·0479	0·132	0·0692	0·172	0·0908
0·053	0·0274	0·093	0·0484	0·133	0·0697	0·173	0·0914
0·054	0·0279	0·094	0·0489	0·134	0·0703	0·174	0·0919
0·055	0·0284	0·095	0·0495	0·135	0·0708	0·175	0·0924
0·056	0·0288	0·096	0·0500	0·136	0·0713	0·176	0·0930
0·057	0·0293	0·097	0·0505	0·137	0·0719	0·177	0·0935
0·058	0·0298	0·098	0·0511	0·138	0·0724	0·178	0·0941
0·059	0·0303	0·099	0·0516	0·139	0·0729	0·179	0·0946
0·060	0·0308	0·100	0·0521	0·140	0·0735	0·180	0·0952
0·061	0·0313	0·101	0·0527	0·141	0·0740	0·181	0·0957
0·062	0·0318	0·102	0·0532	0·142	0·0745	0·182	0·0962
0·063	0·0323	0·103	0·0537	0·143	0·0751	0·183	0·0968
0·064	0·0328	0·104	0·0543	0·144	0·0756	0·184	0·0973
0·065	0·0333	0·105	0·0548	0·145	0·0761	0·185	0·0978
0·066	0·0338	0·106	0·0553	0·146	0·0767	0·186	0·0984
0·067	0·0343	0·107	0·0559	0·147	0·0772	0·187	0·0990
0·068	0·0348	0·108	0·0565	0·148	0·0778	0·188	0·0995
0·069	0·0353	0·109	0·0569	0·149	0·0783	0·189	0·1001
0·070	0·0358	0·110	0·0575	0·150	0·0789	0·190	0·1006
0·071	0·0363	0·111	0·0580	0·151	0·0794	0·191	0·1012
0·072	0·0368	0·112	0·0585	0·152	0·0800	0·192	0·1017
0·073	0·0373	0·113	0·0591	0·153	0·0805	0·193	0·1023
0·074	0·0378	0·114	0·0596	0·154	0·0810	0·194	0·1029
0·075	0·0383	0·115	0·0601	0·155	0·0816	0·195	0·1034
0·076	0·0388	0·116	0·0607	0·156	0·0821	0·196	0·1040
0·077	0·0393	0·117	0·0612	0·157	0·0827	0·197	0·1046
0·078	0·0398	0·118	0·0617	0·158	0·0832	0·198	0·1051
0·079	0·0403	0·119	0·0623	0·159	0·0838	0·199	0·1057
0·080	0·0408	0·120	0·0628	0·160	0·0843	0·200	0·1063
0·081	0·0413	0·121	0·0633	0·161	0·0848	0·201	0·1068
0·082	0·0418	0·122	0·0639	0·162	0·0854	0·202	0·1074
0·083	0·0423	0·123	0·0644	0·163	0·0859	0·203	0·1079
0·084	0·0428	0·124	0·0649	0·164	0·0865	0·204	0·1085
0·085	0·0434	0·125	0·0655	0·165	0·0870	0·205	0·1091
0·086	0·0439	0·126	0·0660	0·166	0·0876	0·206	0·1096
0·087	0·0444	0·127	0·0665	0·167	0·0881	0·207	0·1102
0·088	0·0449	0·128	0·0671	0·168	0·0886	0·208	0·1108
0·089	0·0454	0·129	0·0676	0·169	0·0892	0·209	0·1113

Kupfer g	Zucker g	Kupfer g	Zucker g	Kupfer g	Zucker g	Kupfer g	Zucker g
0·210	0·1119	0·250	0·1346	0·290	0·1578	0·330	0·1816
0·211	0·1125	0·251	0·1352	0·291	0·1584	0·331	0·1822
0·212	0·1130	0·252	0·1358	0·292	0·1590	0·332	0·1828
0·213	0·1136	0·253	0·1363	0·293	0·1596	0·333	0·1835
0·214	0·1142	0·254	0·1369	0·294	0·1602	0·334	0·1841
0·215	0·1147	0·255	0·1375	0·295	0·1608	0·335	0·1847
0·216	0·1153	0·256	0·1381	0·296	0·1614	0·336	0·1854
0·217	0·1158	0·257	0·1386	0·297	0·1620	0·337	0·1860
0·218	0·1164	0·258	0·1392	0·298	0·1626	0·338	0·1866
0·219	0·1170	0·259	0·1398	0·299	0·1632	0·339	0·1872
0·220	0·1175	0·260	0·1404	0·300	0·1638	0·340	0·1878
0·221	0·1181	0·261	0·1409	0·301	0·1644	0·341	0·1884
0·222	0·1187	0·262	0·1415	0·302	0·1650	0·342	0·1890
0·223	0·1192	0·263	0·1421	0·303	0·1656	0·343	0·1896
0·224	0·1198	0·264	0·1427	0·304	0·1662	0·344	0·1902
0·225	0·1204	0·265	0·1432	0·305	0·1668	0·345	0·1908
0·226	0·1209	0·266	0·1438	0·306	0·1673	0·346	0·1914
0·227	0·1215	0·267	0·1444	0·307	0·1679	0·347	0·1920
0·228	0·1221	0·268	0·1449	0·308	0·1685	0·348	0·1926
0·229	0·1226	0·269	0·1455	0·309	0·1691	0·349	0·1932
0·230	0·1232	0·270	0·1461	0·310	0·1697	0·350	0·1938
0·231	0·1238	0·271	0·1467	0·311	0·1703	0·351	0·1944
0·232	0·1243	0·272	0·1472	0·312	0·1709	0·352	0·1950
0·233	0·1249	0·273	0·1478	0·313	0·1715	0·353	0·1956
0·234	0·1255	0·274	0·1484	0·314	0·1721	0·354	0·1962
0·235	0·1260	0·275	0·1490	0·315	0·1727	0·355	0·1968
0·236	0·1266	0·276	0·1495	0·316	0·1733	0·356	0·1974
0·237	0·1272	0·277	0·1501	0·317	0·1739	0·357	0·1980
0·238	0·1278	0·278	0·1507	0·318	0·1745	0·358	0·1986
0·239	0·1283	0·279	0·1513	0·319	0·1751	0·359	0·1992
0·240	0·1289	0·280	0·1519	0·320	0·1756	0·360	0·1998
0·241	0·1295	0·281	0·1525	0·321	0·1762	0·361	0·2004
0·242	0·1300	0·282	0·1531	0·322	0·1768	0·362	0·2011
0·243	0·1306	0·283	0·1537	0·323	0·1774	0·363	0·2017
0·244	0·1312	0·284	0·1543	0·324	0·1780	0·364	0·2023
0·245	0·1318	0·285	0·1549	0·325	0·1786	0·365	0·2030
0·246	0·1323	0·286	0·1555	0·326	0·1792	0·366	0·2036
0·247	0·1329	0·287	0·1561	0·327	0·1798	0·367	0·2042
0·248	0·1335	0·288	0·1567	0·328	0·1804	0·368	0·2048
0·249	0·1341	0·289	0·1572	0·329	0·1810	0·369	0·2055

Kupfer g	Zucker g	Kupfer g	Zucker g	Kupfer g	Zucker g	Kupfer g	Zucker g
0·370	0·2061	0·385	0·2155	0·400	0·2249	0·415	0·2357
0·371	0·2067	0·386	0·2161	0·401	0·2257	0·416	0·2364
0·372	0·2073	0·387	0·2168	0·402	0·2264	0·417	0·2371
0·373	0·2080	0·388	0·2174	0·403	0·2271	0·418	0·2378
0·374	0·2086	0·389	0·2180	0·404	0·2278	0·419	0·2385
0·375	0·2092			0·405	0·2286		
0·376	0·2099	0·390	0·2187	0·406	0·2293	0·420	0·2392
0·377	0·2105	0·391	0·2193	0·407	0·2300	0·421	0·2399
0·378	0·2111	0·392	0·2199	0·408	0·2307	0·422	0·2406
0·379	0·2117	0·393	0·2205	0·409	0·2314	0·423	0·2413
		0·394	0·2212			0·424	0·2420
0·380	0·2124	0·395	0·2218	0·410	0·2321	0·425	0·2427
0·381	0·2130	0·396	0·2224	0·411	0·2328	0·426	0·2434
0·382	0·2136	0·397	0·2231	0·412	0·2335	0·427	0·2441
0·383	0·2143	0·398	0·2237	0·413	0·2343	0·428	0·2449
0·384	0·2149	0·399	0·2243	0·414	0·2350	0·429	0·2456
						0·430	0·2463

vollständig verjagt ist, versetzt den Rückstand mit Wasser und Tierkohle, verdampft das Gemisch auf etwa 10 cm^3, filtriert und prüft das Filtrat nach 1 *a*.

2. In Rotweinen.

100 cm^3 Rotwein versetzt man mit 6 cm^3 Bleiessig und filtriert. Zum Filtrat gibt man 4 cm^3 einer konzentrierten Lösung von Magnesiumsulfat und etwas Tierkohle. Man filtriert nach einigem Stehen und prüft das Filtrat nach der unter 1 *a* gegebenen Vorschrift. Entsteht hierbei keine Blaufärbung, so behandelt man das Filtrat nach der unter 1 *b* gegebenen Vorschrift.

Anmerkung: Alle zur Verwendung gelangenden Stoffe, auch das Wasser und die Tierkohle, müssen zuvor auf Salpetersäure geprüft werden; Salpetersäure enthaltende Stoffe dürfen nicht angewendet werden.

28. Nachweis von Baryum und Strontium.

100 cm^3 Wein werden eingedampft und in der unter Nr. 4 angegebenen Weise verascht. Die Asche nimmt man mit verdünnter Salzsäure auf, filtriert die Lösung und verdampft das Filtrat zur Trockene. Das trockene Salzgemenge wird spektroskopisch auf Baryum und Strontium geprüft. Ist durch die spektroskopische Prüfung das Vorhandensein von Baryum oder Strontium festgestellt, so ist die quantitative Bestimmung auszuführen.

29. Bestimmung des Kupfers.

Das Kupfer wird in $^1/_2$—1 l Wein elektrolytisch bestimmt. Das auf der Platinelektrode abgeschiedene Metall ist nach dem Wägen in Salpetersäure zu lösen und in üblicher Weise auf Kupfer zu prüfen.

Wasser.[1]

Man unterscheidet Oberflächenwasser und Grundwasser. Oberflächenwasser ist das zutage liegende Wasser von Seen, Teichen, Flüssen, welches gegen Zutritt von Verunreinigungen nicht geschützt ist.

Grundwasser ist das im Untergrunde auf undurchlässigen Schichten fließende Wasser, welches entweder als Quelle zutage kommt oder erbohrt wird; es tritt dann entweder unter eigenem Druck aus oder es wird durch Pumpen gehoben.

Oberflächenwasser gilt stets als verunreinigt, weil es durch Zuflüsse mehr oder weniger verunreinigt wird.

Die Güte des Grundwassers hängt von der Filtration ab, welche es im Boden durchgemacht hat und von der Beschaffenheit der filtrierenden Schichten. Gut filtrierende Bodenschichten liefern ein bakterienfreies Grundwasser, dessen chemische Zusammensetzung wesentlich von der Bodenart abhängt, welche es durchfließt.

Oberflächen- und Grundwasser wechseln mitunter ihre Zusammensetzung, je nach der Menge der Niederschläge; auch durch anhaltende Trockenheit oder starken Frost können im Boden Risse und Veränderungen des Gefüges entstehen, welche die Filtration ungünstig beeinflussen und das Wasser verschlechtern. Deshalb ist es notwendig, um einen sicheren Einblick in diese Verhältnisse zu gewinnen, das Wasser öfter und zu verschiedenen Jahreszeiten zu untersuchen.

Bei Zentralwasserleitungen kann die chemische Zusammensetzung des Wassers auch durch die Leitungsröhren beeinflußt werden, da einige Wässer imstande sind, Eisen, Blei, Kupfer und Zink zu lösen.

1. Bestimmung der Schwebestoffe.

Sie ist selten notwendig, da trübe Wässer als Trinkwasser nicht zugelassen werden. Sollte sie aber erforderlich sein, so verdampft man ein bestimmtes Quantum des Wassers vor und nach dem Filtrieren in einer Platinschale zur Trockene und trocknet bei 110°. Aus dem Gewichtsunterschied ergibt sich die Menge der Schwebestoffe.

2. Bestimmung des Abdampfrückstandes und des Glühverlustes. (Siehe *Emmerling,* Bd. 6, S. 305.)

3. Bestimmung des Chlors. (Siehe *Emmerling,* Bd. 6, S. 305.)

4. Bestimmung der Salpetersäure.

a) Qualitativer Nachweis. In einer Porzellanschale werden 5 cm^3 reine konzentrierte Schwefelsäure mit einigen Körnchen Diphenylamin ver-

[1]) Vgl. *P. Emmerlings* Beitrag im Bd. VI der Arbeitsmethoden.

setzt, hierzu läßt man 1 *cm*³ Wasser zufließen und rührt um. Bei Gegenwart von Salpetersäure tritt Blaufärbung ein. In gleicher Weise kann man auch mit Bruzin prüfen, welches mit Salpetersäure Rotfärbung gibt.

Man kann den Nachweis auch so führen, daß man 5 *cm*³ Wasser im Reagenzglase mit einer Lösung von Diphenylamin in konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet, worauf sich bei Gegenwart von Salpetersäure an der Berührungsstelle ein blauer Ring bildet.

Schließlich kann man auch so vorgehen, daß man die Salpetersäure mit Zink und Schwefelsäure zu salpetriger Säure reduziert und diese mit Jodzinkstärkelösung nachweist.

G. Lunge und *L. B. Winkler*[1]) haben festgestellt, daß Bruzin in schwefelsaurer Lösung bei großem Überschuß an Schwefelsäure nur Salpetersäure, nicht aber salpetrige Säure anzeigt, da diese in Nitrosulfonsäure übergeht, welche die Reaktion nicht beeinflußt. Man kann daher bei Verwendung von Bruzin von der Entfernung der salpetrigen Säure absehen.

Versetzt man 1 Vol. Wasser mit 1/2 Vol. konzentrierter Schwefelsäure und löst man in der abgekühlten Flüssigkeit etwas Bruzin, so reagiert nur die salpetrige Säure. Die Färbung ist anfangs kirschrot, schließlich zitronengelb.

Gibt man 1 Vol. Wasser zu 3—4 Vol. konzentrierter Schwefelsäure und löst man nach dem Abkühlen etwas Bruzin in der Mischung auf, so reagiert nur die Salpetersäure. Die Färbung ist die gleiche wie die mit salpetriger Säure.

Zu beachten ist stets, daß der Nachweis der Salpetersäure sowohl durch Diphenylamin als auch durch Bruzin nicht zu erbringen ist, wenn viel Eisen zugegen ist. Dies muß dann vorher durch Kochen mit Natriumhydroxyd entfernt werden.

b) Quantitative Bestimmung der Salpetersäure.

Man verfährt bei Grundwasser nach *A. Ulsch*, indem man 1 *l* Wasser über freier Flamme bis auf etwa 30 *cm*³ eindampft. Diese werden in einen Kolben von 600 *cm*³ Inhalt gebracht und mit Wasser nachgewaschen, bis die Gesamtmenge 60—80 *cm*³ beträgt. Nach dem Erkalten wird mit Schwefelsäure schwach angesäuert und schließlich werden 10 *cm*³ verdünnte Schwefelsäure (1 Vol. Schwefelsäure und 2 Vol. Wasser) und 5 *g* reduziertes Eisen hinzugesetzt. Man bedeckt den Kolben mit einem birnförmigen Gefäß, welches mit kaltem Wasser gefüllt ist, wozu auch ein unten zugeschmolzener Trichter verwendet werden kann. Dann erwärmt man über sehr kleiner Flamme und steigert langsam die Hitze, bis eine lebhafte, aber nicht heftige Gasentwicklung eintritt. Nach einigen Minuten erwärmt man zum langsamen Sieden und nach etwa 1 Minute ist die Reduktion der Salpetersäure zu Ammoniak beendet. Man verfährt dann weiter nach den allgemeinen Untersuchungsmethoden, S. 105.

[1]) Zeitschr. f. angew. Chem. S. 170 (1902).

Nach der Methode von *Schulze-Tiemann* wird die Salpetersäure mittelst Salzsäure und Eisenchlorür in Stickoxyd übergeführt und dieses volumetrisch bestimmt. (Siehe *Emmerling*, Bd. 6, S. 312.)

Die Indigomethode von *R. Warington* wird nur noch selten angewendet, sie gibt auch nur annähernde Resultate.

Um kleine Mengen von Salpetersäure im Wasser quantitativ zu bestimmen, kann man sich des Verfahrens von *Noll*[1]) bedienen. Man läßt auf 10 *cm*³ Wasser eine Lösung von 0·05 *g* Bruzin in 20 *cm*³ Schwefelsäure (S = 1·84) unter Umrühren eine Viertelminute einwirken und gießt dann in einen Zylinder, welcher 70 *cm*³ Wasser enthält. Das zu untersuchende Wasser muß aber so verdünnt werden, daß im Liter höchstens 5 *mg* Salpetersäure vorhanden sind, da größere Mengen keine vergleichbaren Farbunterschiede mehr geben. Als Vergleichsflüssigkeit dient eine Lösung, welche 0·1871 *g* Kalisalpeter in 1 *l* Wasser enthält, so daß 10 *cm*³ dieser Lösung 1 *mg* Salpetersäure entsprechen. Hiervon werden 5 oder weniger Kubikzentimeter auf 10 aufgefüllt und in der gleichen Weise mit Bruzin und Schwefelsäure behandelt. Beide Male muß die Beobachtungszeit von einer Viertelminute genau eingehalten werden, da die rote Färbung nur bei starker Verdünnung haltbar ist. Die Bruzinschwefelsäure muß jedesmal frisch bereitet werden. Wenn salpetrige Säure vorhanden ist, so muß diese vorher entfernt werden. Ferner müssen Wässer, welche weniger als 10 *mg* Salpetersäure im Liter enthalten, entsprechend eingedampft werden.

Bei allen diesen Verfahren wird die salpetrige Säure mitbestimmt.

Die salpetrige Säure entfernt man am besten durch Harnstoff bei Gegenwart von Schwefelsäure.

5. Bestimmung der salpetrigen Säure.

a) Qualitativer Nachweis. Der Nachweis erfolgt mit Jodzinkstärkelösung in der Weise, wie *Emmerling*, Bd. 6, S. 315 das Nähere angibt.

Die Reaktion muß innerhalb 5 Minuten eintreten, spätere Blaufärbung ist nicht entscheidend. Es lassen sich nach diesem Verfahren noch 0·02 *mg* salpetrige Säure im Liter nachweisen.

Oxydierende Stoffe, namentlich Eisenverbindungen, stören die Reaktion, ebenso auch Schwefelwasserstoff, welcher in fauligem Wasser vorkommen kann.

In diesem Falle muß vorher Eisen mit Natronlauge und Schwefelwasserstoff durch Zinkazetat entfernt werden.

Ein weiteres empfindliches Reagens auf salpetrige Säure ist das Metaphenylendiamin.

Zum Nachweis werden 100 *cm*³ mit etwas Metaphenylendiaminlösung versetzt, welche man zu diesem Zwecke jedesmal frisch herstellt; dann werden einige Tropfen verdünnte Schwefelsäure zugesetzt. Bei Anwesenheit von salpetriger Säure färbt sich das Gemisch gelb bis

---

[1]) Zeitschr. f. angew. Chem. Bd. **14**. S. 1317 (1901).

bräunlich. Das Reagens ist sehr empfindlich, man kann damit noch 0·05 *mg* salpetrige Säure in 1 *l* Wasser sicher nachweisen.

E. Riegler[1]) weist die salpetrige Säure durch Natriumnaphtionat und β-Naphthol nach. 2 *g* chemisch reines Natriumnaphtionat und 1 *g* β-Naphthol werden in 200 *cm*³ Wasser gelöst und filtriert. Die Lösung ist farblos und im Dunkeln haltbar.

Zur Prüfung gießt man zu 10 *cm*³ Wasser 10 Tropfen des Reagens und 2 Tropfen konzentrierte Salzsäure. Läßt man nun in das schiefgehaltene Röhrchen 1 *cm*³ Ammoniak einfließen, so entsteht bei Gegenwart von salpetriger Säure an der Berührungsstelle ein roter Ring; schüttelt man, so wird die ganze Flüssigkeit rosa bis rot gefärbt.

Da die verdünnte Lösung des Reagens veilchenblau fluoresziert, so muß die Färbung im durchfallenden Licht beobachtet werden. Die salpetrige Säure läßt sich auf diese Weise noch in einer Verdünnung von 1 : 100 Millionen im Wasser nachweisen.

Schließlich wird auch das Verfahren von *Gries* und *Lunge* vielfach angewendet, nach welchem die salpetrige Säure mit Hilfe von α-Naphthylamin und Sulfanilsäure nachgewiesen wird. Das Reagens besteht aus einer Lösung von Sulfanilsäure in 150 *cm*³ einer 30%igen Essigsäure (s = 1·041) und einer Lösung von α-Naphthylamin (Schmelzpunkt 50°) in 20 *cm*³ Wasser. Vor dem Gebrauch werden beide Lösungen gemischt.

Zur Prüfung werden 20 *cm*³ Wasser mit 2—3 *cm*³ der Mischung auf 70—80° erwärmt. Bei Anwesenheit von salpetriger Säure färbt sich die Flüssigkeit rot. Empfindlichkeit 0·001 *mg* in 1 *l* Wasser.

b) Quantitative Bestimmung. Sie erfolgt gewöhnlich auf kolorimetrischem Wege, wozu man sich der Kolorimeter von *J. König*[2]) bedienen kann. (Siehe *Emmerling*, Bd. 6, S. 316.)

Zur titrimetrischen Bestimmung der salpetrigen Säure bereitet man eine $^1/_{100}$-Normalchamäleonlösung (0·315 *g* Kaliumpermanganat in 1 *l*), ferner $^1/_{50}$-Normaleisenammonsulfatlösung (3·9208 in 1 *l* Wasser), von welcher bei genauer Einstellung 10 *cm*³ = 10 *cm*³ $^1/_{100}$-Chamäleonlösung entsprechen; 1 *cm*³ dieser Lösung entspricht 0·19 *mg* salpetriger Säure.

100 *cm*³ des zu prüfenden, nitrithaltigen Wassers werden mit einem Überschuß von $^1/_{100}$-Chamäleonlösung versetzt und mit 5 *cm*³ verdünnter Schwefelsäure (1 : 3) angesäuert. Darauf setzt man eine der Chamäleonlösung entsprechende Menge Eisenammonsulfatlösung zu und titriert mit Chamäleon wieder bis zur eben eintretenden Rotfärbung.

Zieht man von der Gesamtmenge der verbrauchten Chamäleonlösung diejenige, welche zur Oxydation der Eisenammonsulfatlösung erforderlich war, ab und multipliziert den Unterschied mit 0·19, so erhält man die in 100 *cm*³ Wasser erhaltenen Milligramme salpetriger Säure.

---

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chem. S. 677 (1896) und S. 377 (1897).

[2]) Die Untersuchung landwirtschaftlich und gewerblich wichtiger Stoffe. S. 611 (1898).

Sind von der Chamäleonlösung z. B. im ganzen verbraucht 10 + 2·4 cm^3 und entsprechen 10 cm^3 der Eisenammonsulfatlösung = 9·9 cm^3 Chamäleonlösung, so sind 10 + 2·4 = 12·4 — 9·9 = 2·5 cm^3 $^1/_{100}$-Chamäleonlösung zur Oxydation der salpetrigen Säure verbraucht worden, also sind in 100 cm^3 Wasser 2·5 × 0·19 = 0·475 *mg*, oder in 1 *l* Wasser 0·475 × 10 = 4·75 *mg* N_2O_3 vorhanden.

Wenn die Titration in der Kälte bei 15° vorgenommen wird, so wirken die organischen Stoffe nicht oder kaum schädlich, dagegen kann dieses Verfahren nicht angewendet werden, wenn Schwefelwasserstoff oder Eisenoxydulsalze zugegen sind.

Schließlich kann man die salpetrige Säure auch kolorimetrisch mittelst Metaphenylendiamin bestimmen. 1 cm^3 einer Lösung von Metaphenylendiamin auf 1 Liter Wasser (mit Schwefelsäure ansäuern) wird zu 100 cm^3 Wasser zugesetzt und die Färbung mit Nitritlösungen von bekanntem Gehalt verglichen. Zum Vergleich dient eine Lösung von salpetrigsaurem Silber, welche 0·94048 *g* dieses Salzes zu 1 Liter gelöst enthält. 1 cm^3 entspricht 0·01 *mg* N_2O_3.

6. Nachweis von Ammoniak.

a) Qualitativer Nachweis. Dieser erfolgt mit *Nesslers* Reagens, das Nähere über die Ausführung siehe bei *Emmerling*, Bd. 6, S. 317.

Ist das Wasser sehr hart (über 15° Härte), so treten Trübungen auf, weil die Bikarbonate abgeschieden werden. In diesem Falle versetzt man zunächst eine größere Menge Wasser mit etwas Soda und Natronlauge, welche beide frei von Ammoniak sein müssen, läßt den entstehenden Niederschlag absetzen und benutzt die darüberstehende klare Lösung zur Reaktion. Trübe Lösungen werden am besten mit Alaun behandelt, jedoch ist auch hier ein Filtrieren möglichst zu vermeiden.

Störend wirken Eisensalze, welche durch alkalische Quecksilberlösung ebenfalls gefällt werden, und schließlich auch Schwefelwasserstoff, welcher das *Nessler*sche Reagens durch Bildung von Schwefelquecksilber gelb färbt. Um vor Täuschungen sicher zu sein, säure man nach Beendigung der Reaktion stets mit verdünnter Schwefelsäure an, dann muß die Lösung wieder vollständig farblos werden, widrigenfalls Schwefelwasserstoff die Reaktion verursacht hat.

Ein bequemes Verfahren, um den störenden Einfluß der Metalle und Erdalkalien zu umgehen, gibt *Winkler* [1]) an, indem er das Kaliumnatriumtartrat benutzt, welches die Eigenschaft hat, mit den genannten Stoffen lösliche Doppelsalze zu bilden. *Winkler* stellt eine Lösung her, welche in 200 *g* destillierten Wassers 100 *g* chemisch reines Seignettesalz enthält; um sie vor Zersetzung zu schützen, werden ihr 10 cm^3 *Nessler*sches Reagens zugesetzt. Man läßt absitzen und bewahrt die Lösung in braunen Flaschen auf. Zur Prüfung setzt man zu 100 cm^3 des betreffenden Wassers 5—10 cm^3 dieser Lösung und prüft mit *Nessler*schem Reagens wie vorher.

[1]) *Lunge*, Chem.-techn. Unters.-Meth. S. 802 (1904).

b) Quantitative Bestimmung des Ammoniaks. (Siehe *Emmerling*, Bd. 6, S. 317.)

c) Bestimmung des Albuminoidammoniaks, d. h. des Ammoniaks leicht zersetzlicher organischer Stickstoffverbindungen.

Man benutzt am zweckmäßigsten das Verfahren von *Wanklyn, Chapmann* und *Smith* [1], welches darin besteht, daß man 1—2 *l* Wasser zunächst unter Zusatz von frisch gebrannter Magnesia oder ammoniakfreien Natriumkarbonats längere Zeit in einer geräumigen Retorte kocht, um alles fertig gebildete Ammoniak auszutreiben. Nach dem Erkalten setzt man 100 cm^3 einer Lösung, welche 200 *g* Kalihydrat und 8 *g* Kaliumpermanganat im Liter enthält, hinzu und kocht mehrere Stunden. Das entwickelte Ammoniak wird in einer neuen Vorlage aufgefangen und titrimetrisch bestimmt.

7. Bestimmung der Schwefelsäure.

In 200—500 cm^3 Wasser wird die Schwefelsäure nach dem Ansäuern mit Salzsäure mit Chlorbaryum gefällt und als schwefelsaures Baryum zur Wägung gebracht. Ist viel Kieselsäure vorhanden, so muß diese zunächst durch Eindampfen bis zur Trockene und Behandeln mit Salzsäure abgeschieden werden. Der Rückstand wird im Wasser gelöst und filtriert. Es ist zu beachten, daß der Rückstand bei gipshaltigen Wässern mit genügend Wasser behandelt werden muß, damit das schwerlösliche Kalziumsulfat auch völlig wieder gelöst wird.

8. Bestimmung der Kohlensäure.

a) Bestimmung der freien Kohlensäure.

Zur qualitativen Prüfung benutzt man eine Lösung von 1 Teil Rosolsäure in 500 Teilen 80%igem Weingeist, welche mit Natronlauge bis zur schwach rötlichen Färbung versetzt worden ist. Man gibt zu 100 cm^3 Wasser 1 cm^3 dieser Lösung; bei Gegenwart von freier Kohlensäure, aber auch anderen freien Säuren, färbt sich die Mischung gelblich, sonst bleibt sie rot.

Verwendbar ist auch eine schwach rotgefärbte Phenolphtaleïnlösung, welche durch Kohlensäure entfärbt wird.

Zur quantitativen Bestimmung werden 100 cm^3 Wasser nach Zusatz von 10 Tropfen Phenolphtaleïnlösung mit $^1/_{10}$-Normalnatronlauge titriert, bis die Flüssigkeit deutlich rot bleibt. Der Versuch ist zu wiederholen, indem man die beim ersten Versuch ermittelte Alkalimenge fast auf einmal zusetzt und dann tropfenweise fertig titriert.

1 cm^3 $^1/_{10}$-Normalnatronlauge entspricht 4·4 *mg* Kohlensäure.

Titriert man die freie Kohlensäure in eisenhaltigen Wässern, welche das Eisen in Form von Eisenbikarbonat enthalten, so ist zu beachten, daß dieses durch Natronlauge in Eisenhydroxyd übergeführt wird, so daß zuviel freie Kohlensäure gefunden werden muß. Das Ha-

---

[1]) Vgl. *R. Fresenius*, Quant. Anal. 6. Aufl. II. 172. — *J. A. Wanklyn*, Analyse des Wassers, übersetzt von *H. Borckert*, S. 33.

färbung ist dann überhaupt erst zu sehen, wenn der Niederschlag sich abgesetzt hat. Deshalb ist die Titration langsam auszuführen. Um den Fehler auszugleichen, sind für jedes Milligramm Eisen (Fe_2O_3) 1·1 *mg* Kohlensäure abzurechnen.

b) Bestimmung der halbgebundenen und freien Kohlensäure.

Sie erfolgt nach dem Verfahren von *Pettenkofer* in der von *Trillich*[1]) angegebenen Abänderung. Man bindet durch Baryumhydroxyd die freie und halbgebundene Kohlensäure und titriert den Überschuß von Barythydrat mit Salzsäure zurück. Wenn man Baryumhydroxyd dem Wasser zusetzt, so fällt sowohl die freie als auch die halbgebundene Kohlensäure als unlösliches Baryumkarbonat aus. Jedes Molekül Baryumhydroxyd, welches in Baryumkarbonat verwandelt wird, entspricht 1 Molekül Kohlensäure. Da aber auch durch schwefelsaure Salze ein Teil des Baryts ausgefüllt wird, so müssen diese vorher durch Baryumchlorid in indifferente Alkalichloride verwandelt werden. Eine weitere Fehlerquelle bildet das Magnesiumbikarbonat, welches sich mit Baryumhydroxyd zunächst in Baryumkarbonat und Magnesiumkarbonat umsetzt: dann wirkt aber das Baryumhydroxyd weiter auf das Magnesiumkarbonat ein, indem sich Baryumkarbonat und Magnesiumhydroxyd bilden. Ein Molekül Magnesiumbikarbonat wird daher 2 Moleküle Baryumhydroxyd umsetzen oder für je 1 Molekül Magnesium würde man 1 Molekül Kohlensäure zuviel finden. Dies muß berücksichtigt werden.

Zur Untersuchung sind folgende Lösungen erforderlich:

1. Barytwasser (ca. 4·5 *g* reines kristallisiertes Baryumhydroxyd werden in 1 *l* H_2O gelöst und 0·25 *g* $BaCl_2$ zugesetzt).

2. Baryumchloridlösung 1:10 ganz neutral.

3. Salzsäure, von der 1 cm^3 = 1 *mg* Kohlensäure entspricht. Man verdünnt 7 cm^3 Salzsäure (s = 1·124) auf 1 *l* Wasser; so daß 22 cm^3 der Säure 10 cm^3 $^1/_{10}$-Normalnatronlauge neutralisieren.

4. Lösungen von Phenolphtaleïn und Cochenille.

Man bringt in einen Schüttelzylinder von 220 cm^3 Inhalt, der mit Kautschukstopfen verschließbar ist, mittelst Pipetten:

100 cm^3 des zu untersuchenden Wassers,
45 „ Barytwasser,
5 „ Baryumchloridlösung,

im ganzen also 150 cm^3, schüttelt gut durch und läßt 12 Stunden ruhig stehen.

Hierbei spielen sich folgende chemischen Prozesse ab:

a) die freie Kohlensäure wird zu unlöslichem Baryumkarbonat gebunden;

b) das durch halbgebundene Kohlensäure gelöste Kalziumkarbonat wird seines Lösungsmittels beraubt und ausgefällt;

[1]) *Emmerich* und *Trillich*, Anleitung zur hygienischen Untersuchung. S. 116. München (1892).

c) das Alkalikarbonat wird durch Baryumchlorid in Alkalichlorid und unlösliches Baryumkarbonat umgesetzt;

d) alle Magnesia wird als Magnesiumhydroxyd gefällt; auch das Magnesiumkarbonat, das sich mit Baryumchlorid in unlösliches Baryumkarbonat und lösliches Magnesiumchlorid umsetzt, wird als Magnesiumhydroxyd gefällt;

e) alle Schwefelsäure wird an Baryt gebunden.

Nach 12 Stunden ist die Barytfällung kristallinisch geworden, man entnimmt dann mittelst einer Pipette 50 *cm*³, ohne den Niederschlag aufzurühren, und titriert mit der angegebenen Salzsäure. Die Differenz des Salzsäureverbrauches drückt diejenige Menge Baryt aus, welche

zur Fällung der freien und halbgebundenen Kohlensäure und

zur Fällung der Magnesia

verbraucht wurde. Man muß nun die Magnesia im Wasser gewichtsanalytisch bestimmen und durch Multiplizieren mit $^{44}/_{40} = 1{\cdot}1$ auf Kohlensäure umrechnen.

Man stellt den Titer des Barytwassers fest, indem man

100 *cm*³ destilliertes, kohlensäurefreies (ausgekochtes) Wasser,
45 „ Barytwasser,
5 „ Baryumchloridlösung

mischt, von der Mischung mit einer Pipette 50 *cm*³ = $^1/_3$ der Gesamtflüssigkeit entnimmt, in einem Kölbchen mit einigen Tropfen Phenolphtaleïnlösung versetzt und aus einer Bürette so lange Salzsäure, von welcher 1 *cm*³ = 1 *mg* Kohlensäure entspricht, zufließen läßt, bis die rote Flüssigkeit eben farblos ist.

Würden z. B. für 50 *cm*³ der Lösung von Baryumchlorid und Baryt bei der Titerstellung a Kubikzentimeter Salzsäure, bei der Titration des Wassers b Kubikzentimeter Salzsäure verbraucht und enthielt das Wasser m Milligramm Magnesia in 100 *cm*³, so enthält 1 *l* Wasser $(3 \times [a - b] - 1{\cdot}1 \times m) \times 10$ *mg* freie und halbgebundene Kohlensäure.

Enthält ein Wasser in 100 *cm*³ 3·3 *mg* Magnesia (MgO) und brauchten 50 *cm*³ der Barytlösung

zur Titerstellung a = 12·7 *cm*³ Salzsäure,
„ Titration b = 7·0 „ „

dann enthält 1 *l* Wasser

$(3 \times [12{\cdot}7 - 7{\cdot}0] - 1{\cdot}1 \times 3{\cdot}3) \times 10$ *mg* freie + halbgebundene Kohlensäure = 134·7 *mg*.

Zu beachten ist, daß auch die Anwesenheit von Eisenbikarbonat, welches in Grundwässern häufig in nicht unbeträchtlichen Mengen vorkommt, einen Fehler verursacht, da sich das Bikarbonat zunächst in das Karbonat und weiter in Eisenhydroxyd und Baryumkarbonat umsetzt; es wird daher zu viel Kohlensäure gefunden. Es müssen in solchen Fällen für je 1 *mg* Fe_2O_3 = 0·55 *mg* Kohlensäure abgezogen werden.

c) Bestimmung der fest gebundenen Kohlensäure.

Sie wird durch Titrieren nach dem Verfahren von *Lunge* ermittelt. Man stellt sich am besten eine Salzsäure her, von der 1 *cm*³ = 1 *mg* CO_2 entspricht (siehe S. 440). Zur Bestimmung versetzt man 200 *cm*³ des zu prüfenden Wassers nach Zusatz von Methylorange mit so viel Salzsäure oder Schwefelsäure, bis Rotfärbung eintritt. Auch hierbei ist auf Eisen Rücksicht zu nehmen, da bei Gegenwart von Eisen zuviel festgebundene Kohlensäure gefunden wird. Es sind für jedes Milligramm Fe_2O_3 0·55 *mg* CO_2 abzuziehen.

d) Bestimmung der Gesamtkohlensäure.

Diese schließt sich an die Bestimmung der halbgebundenen und freien Kohlensäure an. Nach Entnahme der 50 *cm*³, welche zum Zurücktitrieren des freien Baryumhydroxyds verwendet worden sind, befinden sich in dem Absetzglas noch 100 *cm*³ und der Niederschlag. Man titriert nun den gesamten Rest mit Salzsäure und zieht von der gebrauchten Säuremenge den Betrag für die 100 *cm*³ Flüssigkeit ab, welcher aus der Bestimmung der freien und halbgebundenen Kohlensäure bekannt ist. Zu diesem Zweck übersättigt man mit 100 *cm*³ einer eingestellten Salzsäure und erwärmt, bis alle Salzsäure entwichen ist, setzt Cochenilletinktur zu und titriert mit $^1/_{10}$-Normalnatronlauge bis zur Rotfärbung.

Würden zur Neutralisation von 100 *cm*³ Lösung + Niederschlag d *cm*³ Salzsäure gebraucht, so braucht man für den Niederschlag allein d − 2 b (s. oben) *cm*³ Salzsäure, und 1 *l* Wasser enthält dann (d — 2 b) — (1·1 . m) × 10 *mg* Gesamtkohlensäure. Wenn z. B. 100 *cm*³ Flüssigkeit + Niederschlag 43·3 *cm*³ (d) Salzsäure erforderten und wenn b = 7 ist (s. oben), so enthält 1 *l* Wasser (43·3 − 2 . 7·0) — (1·1 . 3·3) 10 = 256·7 *mg* Gesamtkohlensäure.

Übrigens kann man, wenn die Gesamtkohlensäure (G) und die freie und halbgebundene (x) bekannt sind, die Menge der festgebundenen Kohlensäure (B) leicht berechnen, da G — x = B ist. Da ferner halbgebundene und festgebundene Kohlensäure stets in gleicher Menge vorhanden sind, so ist G − 2 B auch gleich der Menge der freien Kohlensäure. In Wässern ohne freie CO_2 ist G = 2 B, so daß sich in diesem Falle die Bestimmung der Gesamtkohlensäure durch einfache Titrierung der festgebundenen Kohlensäure umgehen läßt.

9. Bestimmung der Härte.

Die Härte eines Wassers wird durch die gelösten Kalzium- und Magnesiumsalze verursacht. Sie kommen in verschiedenen Verbindungsformen vor. Zunächst als Bikarbonate, und da diese beim Kochen leicht ausfallen, so wird diese Härte auch wohl vorübergehende, temporäre Härte genannt. Aber diese Abscheidung ist keine vollständige, da die Löslichkeit von Kalziumkarbonat und Magnesiumkarbonat im Wasser nicht unbeträchtlich ist.

Nach *Treadwell* und *Reuter*[1]) löst 1 *l* kohlensäurefreien Wassers noch 34 *mg* Kalziumkarbonat und nach *J. Pfeiffer*[2]) noch 118 *mg* Magne-

[1]) Zeitschr. f. anorg. Chem. Bd. 17. S. 170.

[2]) Zeitschr. f. angew. Chem. S. 200 (1902).

siumkarbonat. Deshalb ist es auch besser, man nennt diese Härte nicht vorübergehende Härte, sondern Karbonathärte.

Ein weiterer Teil der Erdalkalien ist gewöhnlich an Mineralsäuren gebunden, und zwar in Form von Sulfaten, Chloriden oder Nitraten. Diese Härte, welche sich beim Kochen natürlich unverändert erhält, wurde bisher als permanente oder bleibende Härte bezeichnet, sie wird aber besser Mineralsäurehärte genannt.

Die genaueste Bestimmung der Härte erreicht man natürlich durch quantitative Ermittelung der Kalk- und Magnesiaverbindungen nach den bekannten analytischen Verfahren (S. 445). Die Magnesia wird dann durch Multiplizieren mit 1·4 auf Kalk umgerechnet.

Einfache, annähernde Verfahren sind aber allgemein im Gebrauch.

Eine sehr häufig angewandte Bestimmungsmethode ist die nach *Clark*, welche darauf beruht, daß man dem Wasser soviel einer Seifenlösung von bekanntem Gehalt zusetzt, bis alle Erdalkalien in die entsprechenden fettsauren Salze umgewandelt sind. Erst wenn dies geschehen ist, bewirkt ein weiterer Seifenzusatz beim Schütteln das bekannte Schäumen. Über die Ausführung dieser Bestimmung siehe *Emmerling*, Bd. 6, S. 306.

Da äquivalente Mengen der neutralen Kalk- und Magnesiumsalze gleiche Mengen einer Seifenlösung zersetzen, so ist durch die Seifenmenge ein geeigneter Ausdruck gewonnen, welcher den Härtebestimmungen als Maßstab zugrunde gelegt werden kann.

Aber diese Verfahren können nicht zur Ermittelung der absoluten Gewichtsmengen von Kalzium- und Magnesiumsalzen dienen, sondern es wird dadurch nur summarisch ermittelt, welche Gesamtmenge von Kalzium- und Magnesiumsalzen der verbrauchten Seifenmenge äquivalent ist.

Es ist in Deutschland üblich, die Gramme von Kalk (Kalziumoxyd), die in 100.000 Teilen Wasser enthalten sind, Härtegrade zu nennen. Für Magnesiumverbindungen kommen die äquivalenten Mengen Kalk in Rechnung.

Ein Wasser von 20 Härtegraden enthält daher in 100.000 Teilen 20 Teile Kalk oder zum Teil auch äquivalente Mengen von Magnesia.

In Frankreich versteht man unter Härtegraden Gramme Kalziumkarbonat in 100.000 Teilen Wasser; man kann sie durch Multiplizieren mit 0·56 auf deutsche Härtegrade umrechnen.

Bestimmung der Karbonathärte. Man bedient sich des Verfahrens von *Wartha-Pfeifer*.[1]) 100 cm^3 Wasser werden mit Alizarin als Indikator versetzt und kochend mit $^1/_{10}$-Normalsalzsäure titriert, bis die zwiebelrote Farbe auf Gelb umschlägt, und auch nach längerem Kochen nicht mehr wiederkehrt. Die Zahl der verbrauchten Kubikzentimeter $^1/_{10}$-Normalsäure gibt die Alkalität des Wassers an. Da jedem Kubikzentimeter $^1/_{10}$-Salzsäure 2·8 mg Kalk entsprechen, so ergibt die Alkalität mit 2·8 multipliziert die Karbonat-

[1]) Zeitschr. f. angew. Chem. S. 198 (1902).

härte in deutschen Graden. Zu beachten ist, daß bei Wässern, welche kohlensaure Alkalien enthalten, diese Methode natürlich nicht zu verwerten ist; oder es muß eine Korrektur angebracht werden (S. 447).

G. Lunge (l. c.) hat dieses Verfahren insofern etwas vereinfacht, als er die Titration mit Methylorange in der Kälte ausführen läßt, um die alkalische Wirkung des Glases zu vermeiden.

Zur Bestimmung der Gesamthärte nach *Wartha-Pfeifer* werden die wie vorher titrierten 100 cm^3 Wasser mit einem Überschuß einer Lösung, welche aus gleichen Teilen $^1/_{10}$-Normalnatronlauge und $^1/_{10}$-Normalsodalösung besteht, versetzt und einige Minuten gekocht. Gewöhnlich genügen 30 bis 40 cm^3, es ist aber darauf zu achten, daß die Lauge in großem Überschuß vorhanden sein muß. Nach dem Kochen wird abgekühlt und die Flüssigkeit auf 200 cm^3 aufgefüllt. Dann wird filtriert und in 100 cm^3 des Filtrates das überschüssige Alkali durch Titration mit $^1/_{10}$-Normalsalzsäure bestimmt, wobei Methylorange als Indikator dient. Die verbrauchte Säuremenge wird mit 2 multipliziert und vom Titer der Lauge abgezogen; durch Vervielfältigen mit 2·8 erhält man die Gesamthärte in deutschen Graden.

G. Lunge (l. c.) hat dieses Verfahren etwas verändert. 200 cm^3 Wasser werden mit Salzsäure schwach übersättigt und auf 40—50 cm^3 eingedampft. Darauf spült man in einen 100 cm^3-Kolben, neutralisiert genau, wobei Methylorange als Indikator dient, und setzt 40 cm^3 eines Gemisches aus gleichen Volumen $^1/_{10}$-Normalnatronlauge und $^1/_{10}$-Normalsodalösung hinzu. Man kocht auf, läßt erkalten und füllt bis zur Marke auf. Darauf wird filtriert und in 50 cm^3 des Filtrates das unverbrauchte Alkali, wie vorher, mit Methylorange und $^1/_{10}$-Normalsalzsäure bestimmt. Die verbrauchten Kubikzentimeter Normalsalzsäure werden verdoppelt und von dem Titer der 40 cm^3 Alkalilösung abgezogen; durch Multiplizieren dieser Zahl mit 1·4 erfährt man dann die Gesamthärte in deutschen Graden.

Vermindert man die Gesamthärte um die Karbonathärte, so erhält man die Mineralsäurehärte. Ist die Gesamthärte geringer als die Karbonathärte, so ist das ein Zeichen dafür, daß kohlensaures Alkali vorhanden ist.

10. Bestimmung der organischen Substanz. (Siehe *Emmerling*, Bd. 6, S. 320.)

11. Bestimmung der Phosphorsäure.

Zur Bestimmung der Phosphorsäure, die im Trinkwasser nur selten vorkommt, verdampft man 1 *l* Wasser und mehr unter Zusatz von etwas Soda und Salpeter in einer Platinschale zur Trockene. Man glüht den Rückstand, nimmt ihn mit Salzsäure auf, spült in eine Porzellanschale und scheidet durch Eindampfen mit Salzsäure die Kieselsäure ab. Das Filtrat verdampft man wiederholt mit Salpetersäure zur Trockene. Der Rückstand wird schließlich mit Salpetersäure aufgenommen und die Phosphorsäure nach dem Molybdänverfahren bestimmt (S. 153). Sie kann einfacher titrimetrisch bestimmt werden, wie auf Seite 155 angegeben worden ist.

12. Bestimmung des Schwefelwasserstoffs. (Siehe *Emmerling*, Bd. 6. S. 304.)

13. Bestimmung der Kieselsäure.

1—2 *l* oder mehr Wasser werden nach dem Ansäuern mit Salzsäure in einer Platinschale auf dem Wasserbade eingedampft. Den Rückstand durchfeuchtet man mehrmals mit verdünnter Salzsäure, trocknet auf dem Wasserbade und schließlich bei 150—180° auf dem Sandbade aus. Dann nimmt man mit Wasser auf und filtriert die zurückbleibende Kieselsäure ab. Bei ganz klaren Wässern besteht der Rückstand nur aus Kieselsäure, bei trüben kann auch Tonerde zugegen sein.

Hat man bei Gegenwart von erheblichen Mengen von Nitraten oder von Eisen gearbeitet, so pflegt aus der Schale Platin in Lösung zu gehen, welches der Kieselsäure beigemengt ist. In diesem Falle muß die Kieselsäure mit Flußsäure und Schwefelsäure verflüchtigt und aus der Differenz bestimmt werden. Dies ist auch stets für opalisierende Wässer zu beachten.

Hat man eine Porzellanschale verwendet, so läßt sich die abgeschiedene Kieselsäure häufig auch durch Reiben nicht vollständig aus der Schale entfernen. Man erwärmt dann zweckmäßig die Kieselsäurereste nur wenige Minuten mit verdünnter, chemisch reiner Kalilauge und scheidet sie durch Eindampfen mit Salzsäure in einer Platinschale wieder ab.

14. Gewichtsanalytische Bestimmung des Kalkes und der Magnesia.

Entsprechend der Härte des Wassers mißt man 500 oder 1000 *cm*³ ab, säuert mit Salzsäure an und dampft bis auf etwa 150 *cm*³ ein. Die Flüssigkeit versetzt man mit Ammoniumchlorid und erhitzt in einem Becherglase mit aufgelegtem Uhrglase zum Sieden. Man fügt dann Ammoniak bis zur deutlich alkalischen Reaktion hinzu und filtriert von dem geringen Niederschlage, der aus Kieselsäure, Eisenoxydhydrat und Tonerdehydrat besteht, in einen graduierten Kolben von 250 *cm*³ Inhalt. Der Niederschlag wird mit wenig heißem Wasser ausgewaschen.

a) Bestimmung des Kalkes.

Das zum Sieden erhitzte Filtrat wird mit soviel Ammoniumoxalat versetzt, bis keine Fällung mehr entsteht. Man läßt die Flüssigkeit erkalten, füllt mit destilliertem Wasser genau bis zur Marke auf und läßt den Niederschlag vollständig absetzen. Von dem klaren Filtrat mißt man, bevor Waschwasser hinzugebracht worden ist, 200 *cm*³ für die Magnesiumbestimmung ab. Das Kalziumoxalat wird ausgewaschen, getrocknet und in einem Platintiegel geglüht, wobei Kalziumoxyd (CaO) entsteht. Dieses wird gewogen.

b) Bestimmung der Magnesia.

200 *cm*³ der Lösung von *a)* werden kalt mit 100 *cm*³ 10%igem Ammoniak und einem nicht zu großen Überschuß von Natriumphosphatlösung versetzt. Das Ammonium-Magnesiumphosphat scheidet sich erst nach längerer Zeit vollständig ab, weshalb man 12 Stunden stehen läßt. Dann gießt man

die klare Flüssigkeit durch ein gut anliegendes Filter und bringt schließlich auch den Niederschlag darauf. Den Rückstand wäscht man mit einer Mischung aus 3 Teilen destilliertem Wasser und 1 Teil Ammoniakflüssigkeit (von 0·96 spez. Gew.) behutsam aus, bis das Filtrat beim Verdampfen auf dem Platinblech einen kaum wahrnehmbaren Hauch hinterläßt, der sich auch bei weiterem Auswaschen nicht vermindert. Nach dem Trocknen hebt man den Niederschlag möglichst vom Filter ab, bringt ihn in einen Porzellantiegel und äschert das Filter an einer Platinspirale ein. Dies geht gewöhnlich nur langsam vonstatten. Man glüht den Niederschlag anfangs gelinde und bei bedecktem Tiegel, später stärker, indem man durch Schieflegen des Deckels der Luft Zutritt gestattet.

Ammonium-Magnesiumphosphat wird durch Glühen in Magnesiumpyrophosphat umgewandelt. Bei richtiger Ausführung ist der geglühte und wieder erkaltete Rückstand rein weiß; hat man aber die Temperatur zu schnell gesteigert, so wird er grau und läßt sich nur sehr schwer weiß brennen. Man raucht dann mit Salpetersäure ab und glüht nochmals.

Da Platin beim Glühen des Ammonium-Magnesiumphosphats angegriffen wird, so führt man diese Operation besser in einem Porzellantiegel aus. Erhitzt man diesen zuletzt kurze Zeit mittelst eines Gebläses, so erhält man das Magnesiumpyrophosphat von genügend weißer Farbe. Man läßt im Exsikkator erkalten und wägt.

Das Gewicht des Niederschlages multipliziert man mit 0·3603 und erfährt so die entsprechende Menge Magnesia (MgO).

15. Bestimmung der Alkalien.

1—3 *l* Wasser werden bis auf 100 cm^3 eingedampft und mit einer konzentrierten Lösung von Barythydrat versetzt. Man kocht auf und beobachtet, ob alkalische Reaktion vorhanden ist. In der Regel ist 1 *g* Barythydrat auf 1 *l* Wasser ausreichend. Man spült die Flüssigkeit mit Niederschlag in einen 500 cm^3-Kolben, füllt bis zur Marke auf, schüttelt um und läßt absetzen. Von der klaren Flüssigkeit, die auch durch ein trockenes Filter gegeben werden kann, nimmt man 400 cm^3 und versetzt in einem ½-Literkolben mit Ammoniak und kohlensaurem Ammon unter Zusatz von einigen Tropfen oxalsauren Ammons, füllt wieder bis zur Marke auf, mischt durch Schütteln und läßt 12 Stunden stehen. 400 cm^3 der klaren Flüssigkeit dampft man in einer Platinschale ein, verjagt die Ammonsalze durch gelindes Glühen, nimmt den Rückstand mit wenig Wasser auf und versetzt nochmals mit geringen Mengen von Ammoniak und kohlensaurem Ammon. Man filtriert den etwa noch entstehenden Niederschlag ab, wäscht ihn aus und dampft das Filtrat zur Trockene ein; man erhitzt den Rückstand, raucht ihn mit Salzsäure ab und wiegt die wasserfreien Chloralkalien.

Das Gewicht, mit 25 multipliziert und durch 16 dividiert, ergibt die Menge in der ursprünglich angewendeten Wassermenge. Diese Zahl rechnet man in der Regel einfach auf Natrium um, da nur in Ausnahme-

fällen eine Trennung der Alkalien und die Bestimmung des Kalis als Kaliumplatinchlorid erforderlich ist.

16. Bestimmung des kohlensauren Natrons.

Wenn das Wasser nach dem Einengen deutlich alkalische Reaktion auf Kurkumapapier zeigt, ist kohlensaures Natron zugegen.

Zur Bestimmung werden 1—3 *l* Wasser in einer Porzellan- oder besser Platinschale bis auf einen kleinen Rest eingedampft und durch ein kleines Filter filtriert. Nach dem Auswaschen von Schale und Filter wird das Filtrat mit $^1/_{10}$-Normalsalzsäure unter Anwendung von Methylorange als Indikator titriert.

Man kann auch einen Säureüberschuß zugeben und mit $^1/_{10}$-Normallauge und Phenolphtaleïn oder Lackmus etc. als Indikator zurücktitrieren.

Die titrierte Flüssigkeit prüft man auf Magnesia; Kalk ist bei Anwesenheit von kohlensaurem Natron in bestimmbarer Menge nicht vorhanden. Die Magnesia wird quantitativ bestimmt.

Zieht man die Säuremenge, welche der Magnesia entspricht, von dem Gesamtsäureverbrauch ab, so entspricht der Unterschied dem kohlensauren Natron.

Einfacher verfährt man nach *Noll*[1]), indem man die Gesamtmenge von CaO durch 2·8 und von Magnesia durch 2·0 teilt und diese Menge von der Gesamtalkalität (nach *Lunge*, S. 444) abzieht, die verbleibenden Mengen $^1/_{10}$-SO_3 entsprechen der Menge der Alkalikarbonate.

17. Nachweis und Bestimmung von Blei, Kupfer, Zink und Arsen.

Wenn das Wasser freie Kohlensäure und Sauerstoff enthält, so kann aus den Leitungsröhren Blei gelöst werden. Sind die Rohre aus Zink oder aus galvanisch verzinktem, sogenanntem galvanisierten Eisen oder Kupfer, so kann auch Zink oder Kupfer in das Wasser übergehen. Zink und Kupfer können übrigens auch aus dem Boden stammen.

Arsen kommt, außer in Heilquellen, nur ausnahmsweise als Verunreinigung in Betracht.

Zum qualitativen Nachweis wie zur quantitativen Bestimmung der Schwermetalle werden mehrere Liter Wasser mit Salzsäure angesäuert und auf ein kleines Volumen eingedampft; in die Lösung wird Schwefelwasserstoff geleitet und die Schwermetalle (Blei und Kupfer) in üblicher Weise nachgewiesen und quantitativ bestimmt.

Das Filtrat wird nach Entfernung des Schwefelwasserstoffes durch Kochen mit Salpetersäure oxydiert und das Eisen mit überschüssigem Ammon abgeschieden. Das Filtrat prüft man mit Schwefelammonium auf Zink.

Will man das ursprüngliche Wasser bei Abwesenheit anderer Schwermetalle direkt auf Zink prüfen, so kann man einfach Chlorammonium und Schwefelammonium zusetzen.

---

[1]) Chemikerztg. S. 997 (1912).

Blei wird sehr häufig kolorimetrisch bestimmt. Als Vergleichslösung dient eine Bleinitratlösung, welche in 1 cm^3 $^1/_{10}$ *mg* Pb enthält (0·16 *g* Pb $[NO_3]_2$ zu 1 *l*). Man säuert 100 cm^3 Wasser mit Essigsäure an, versetzt mit starkem Schwefelwasserstoffwasser und vergleicht die Färbung mit der von Bleilösungen von bekanntem Gehalt. Ist auch Eisen zugegen, so muß dies vorher entfernt werden, oder das Blei wird zunächst als Schwefelblei abgeschieden, in Salpetersäure gelöst und dann kolorimetrisch bestimmt.

Ob ein Wasser Blei löst und wieviel, erfährt man nach *Ruzicka* auf folgende Weise: Man stellt in einen Zylinder mit Glasstopfen, von 1 *l* Inhalt, ein halbiertes Bleirohr von gleicher Höhe, wie der Zylinder ist, welches vorher gut geputzt und abgetrocknet worden ist. Dann füllt man vorsichtig mit Wasser, ohne Luft miteinzuschließen. Man läßt dann 24 Stunden gut verschlossen stehen, nimmt das Bleirohr heraus, spült es mit Wasser ab und bestimmt, ohne zu filtrieren, im Wasser das Blei.

Kupfer kann in ähnlicher Weise kolorimetrisch als Kupferoxydammoniak bestimmt werden oder maßanalytisch nach *Haën*[1], indem man die schwefelsaure Lösung mit Jodkalium versetzt und das freie Jod mit Thiosulfatlösung bestimmt.

18. Bestimmung des in Wasser gelösten Sauerstoffes.

Zur Bestimmung des im Wasser gelösten Sauerstoffes ist das von *L. W. Winkler*[2]) angegebene Verfahren das beste. Es zeichnet sich durch einfache Ausführbarkeit und Genauigkeit vor anderen Methoden aus. Das Verfahren ist beschrieben bei *Emmerling*, Bd. 6, S. 301.

19. Bestimmung des Eisens.

Das Eisen kommt in Wasser gewöhnlich als Oxydulkarbonat vor, selten als Sulfat oder Oxydverbindung. Die Mengen sind gewöhnlich nur gering, es handelt sich meistens nur um Milligramme oder Zehntelmilligramme. Größere Mengen sind schon durch Augenschein zu erkennen, da das Eisen sich beim Stehen an der Luft als Eisenoxydhydrat abscheidet und dem Wasser eine gelbe Färbung erteilt.

Zum qualitativen Nachweis geringer Mengen eignet sich für Oxydulverbindungen nach den Ermittelungen von *Klut*[3]) am besten das Natriumsulfid in 10%iger Lösung. Zur Ausführung füllt man ein Schaurohr von 30 cm^3 Höhe, dessen Seitenwände durch schwarzes Papier gegen Tageslicht geschützt sind, mit dem zu untersuchenden Wasser, dann fügt man 1 cm^3 der Natriumsulfidlösung hinzu und beobachtet die Färbung über einer weißen Unterlage. Je nach dem Eisengehalt des Wassers tritt sofort, spätestens aber in 2 Minuten, eine grüngelbe, hell-, dunkel- bis schwarzbraune Färbung auf. Die Empfindlichkeitsgrenze liegt bei 0·15 *mg* Fe im Liter.

[1]) Ann. d. Chem. u. Pharm. Bd. 91, S. 237 (1854).

[2]) Berichte d. deutschen chem. Gesellsch. Bd. 21, S. 2843 (1888) und Bd. 22, S. 1764 (1889).

[3]) Zeitschr. f. Krankenanstalten, S. 13 (1907).

Um Oxydsalze qualitativ nachzuweisen, bedient man sich des Rhodankaliums in salzsaurer Lösung, welches noch 0·05 *mg* Eisen (Fe) in 1 *l* Wasser erkennen läßt. Die Farbe schwankt zwischen gelb, gelbrot bis blutrot.

Zur quantitativen Bestimmung verfährt man bei genauen Analysen in der Weise, daß man 200—500 *cm*³ Wasser eindampft und den Rückstand mit konzentrierter Schwefelsäure abraucht, um organische Stoffe zu zerstören. Dann wird mit Wasser aufgenommen und das Eisen nach Zusatz von Schwefelsäure mit eisenfreiem Zink reduziert. Die Eisenoxydullösung wird dann mit einer Lösung von Kaliumpermanganat bis zur bleibenden schwachen Rotfärbung titriert. Diese Farbe muß eine halbe Minute bestehen bleiben, nach längerer Zeit vergeht sie fast immer.

Die Berechnung erfolgt nach dem Ansatz, daß 560 Teile Eisen 3·16 Teilen Kaliumpermanganat entsprechen.

Gewöhnlich verfährt man aber bei geringen Eisenmengen nach einer einfacheren Methode und bestimmt das Eisen kolorimetrisch. Man dampft 300—500 *cm*³ Wasser mit etwas eisenfreier Salzsäure in einer Platinschale bis zur Trockene ein. Den Rückstand glüht man schwach, um alle färbenden Bestandteile, namentlich die Huminsubstanzen, zu entfernen und nimmt den Rückstand mit heißem Wasser und etwas Salzsäure auf. Man versetzt die Lösung mit einigen Kubikzentimetern Salzsäure, füllt sie dann in *Hehner*sche Zylinder und gibt von einer Lösung von Rhodankalium hinzu. Als Vergleichslösung benutzt man eine Lösung von Eisenalaun in Wasser, welche man in gleicher Weise mit Rhodankalium und Salzsäure versetzt. Man vergleicht dann die Stärke der Färbung beider Lösungen. Die Vergleichsflüssigkeit stellt man sich so her, daß man 0·898 *g* Eisenalaun unter Zusatz von etwas Salpetersäure in Wasser löst, so daß 1 *cm*³ = 0·1 *mg* Eisen entspricht. Man muß von dieser Lösung dann soviel dem Kontrollzylinder zusetzen, daß Farbengleichheit entsteht.

Zu beachten ist bei dieser Bestimmung, daß man stets die gleiche Menge Rhodankalium verwenden muß, und daß ferner die Erdalkalien die Färbung abschwächen. Bei sehr harten Wässern, welche etwas mehr Eisen enthalten, ist es deshalb geraten, zunächst das Eisen und Aluminium mit Ammoniak auszufüllen, den Niederschlag abzufiltrieren und den Filterrückstand zu trocknen und zu veraschen. Einfaches Auflösen des Niederschlages auf dem Filter gibt keine genauen Resultate, da das Eisen nicht vollständig aus der Filtermasse ausgewaschen werden kann.

Der Eisengehalt des Filters ist durch einen blinden Versuch festzustellen und in Abzug zu bringen.

Größere Mengen als 0·5 *mg* Fe lassen sich nicht mehr genau bestimmen.

20. Bestimmung des Mangans.

Sehr oft findet man in eisenhaltigen Wässern auch Mangan, nur selten aber überwiegt dieses das Eisen.

Zur qualitativen Prüfung gibt es verschiedene Reaktionen.

Proskauer[1]) verfährt in der Weise, daß er 100 *cm*³ Wasser mit Weinsäure versetzt, dann mit Ammoniak alkalisch macht und Ferrozyankalium zusetzt. Ist Mangan zugegen, so entsteht innerhalb von 1—2 Stunden ein weißer Niederschlag oder bei geringen Mengen eine Trübung.

G. Baumert und *P. Holdefleiß*[2]) versetzen 10 *cm*³ des zu prüfenden Wassers mit etwas Ammoniumpersulfat und verdünnter Salpetersäure; fügt man dann Silbernitrat im Überschuß hinzu, so daß alles Chlor ausfällt, so tritt sofort oder innerhalb einiger Minuten eine violettrote Färbung ein, wenn das Wasser 0·5 *mg* Mangan oder mehr im Liter enthält.

Gelingt diese Reaktion nicht, so versetzt man 10 *cm*³ Wasser zunächst mit etwas Salzsäure und macht mit Kalilauge alkalisch. Nun schüttelt man mehrere Minuten lang kräftig durch, wobei man mehrmals die Luft im Reagenzgläschen erneuert. Dann fügt man etwas Jodkaliumstärkelösung und Salzsäure im Überschuß hinzu. Ist Mangan zugegen, so entsteht sofort eine Blaufärbung; diese Reaktion zeigt noch 0·1 *mg* im Liter deutlich.

Störend wirken hierbei die salpetrige Säure und namentlich Eisen, welches durch Schütteln mit Zinkoxyd vorher entfernt werden muß.

Am einfachsten benutzt man aber als Vorprüfung das gleiche Verfahren, welches auch zur quantitativen Bestimmung kleiner Manganmengen verwendet wird. Man versetzt 100 *cm*³ Wasser mit Salpetersäure und soviel Silbernitrat, daß es nach dem Ausfällen des Chlors noch im Überschuß vorhanden ist. Man setzt dann einige Gramm Ammoniumpersulfat hinzu und erwärmt auf 70—80°.

Bei Anwesenheit von Mangan rötet sich die Flüssigkeit, indem sich Übermangansäure bildet.

Nach *Volhard*[3]) wird das Mangan in der Weise nachgewiesen, daß man 50—100 *cm*³ des Wassers mit reiner Salpetersäure versetzt, zum Kochen erhitzt und dann etwas Bleisuperoxyd hinzusetzt. Man erwärmt wieder zum Kochen, läßt das Bleisuperoxyd absetzen und beobachtet die überstehende klare Flüssigkeit, welche bei Gegenwart von Mangan rot gefärbt wird. Ist viel Chlor vorhanden, so versagt die Reaktion, und das Wasser muß dann vorher mit Salpetersäure eingedampft werden, um die Salzsäure möglichst zu entfernen.

Quantitativ bestimmt man geringe Manganmengen kolorimetrisch nach *Treadwell*.[4])

100—500 *cm*³ Wasser werden mit Schwefelsäure angesäuert und zur Trockene verdampft, um die Chloride zu entfernen. Der Rückstand wird geglüht, um organische Stoffe zu zerstören, mit Wasser aufge-

[1]) Gesundheitsing. S. 197 (1905).
[2]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. Bd. 8. S. 179 (1904).
[3]) Ann. Chem. Pharm. p. 363 (1879).
[4]) Analyt. Chemie. S. 101. Leipzig und Wien 1907.

nommen und, wenn nötig, durch Asbest filtriert. Nach Zusatz von Salpetersäure wird entweder mit Bleisuperoxyd erhitzt oder mit Silbernitrat und Ammoniumpersulfat auf 70—80° erwärmt.

Als Vergleichslösung dient eine Lösung von $^1/_{100}$-Normalkaliumpermanganat in Wasser, von der 1 *cm*³ = 0·11 *mg* Mangan entspricht. Beim Arbeiten mit Bleisuperoxyd muß durch ein Asbestfilter filtriert werden, was manchmal zeitraubend ist.

Schnelles Arbeiten in gut gereinigten Gefäßen ist erforderlich, da die Übermangansäure leicht reduziert wird.

Größere Manganmengen werden am besten nach *Knorr*[1]) bestimmt, dessen Verfahren darauf beruht, daß Mangan in schwefelsaurer Lösung durch Ammoniumpersulfat quantitativ als Mangandioxyd gefällt wird, welches durch Wasserstoffsuperoxyd bestimmt wird.

Mehrere Liter Wasser werden mit einigen Kubikzentimetern Schwefelsäure eingedampft, der Rückstand wird geglüht und in Wasser gelöst. Die Lösung wird mit Schwefelsäure und Ammoniumpersulfat versetzt und längere Zeit (15—20 Minuten) gekocht. Nach dem Erkalten wird soviel einer Lösung von Wasserstoffsuperoxyd in Wasser zugesetzt, bis der Niederschlag eben gelöst ist. Der Überschuß wird mit $^1/_{10}$-Kaliumpermanganat zurücktitriert. Da 3·16 *g* Permanganat = 1·7 *g* Wasserstoffsuperoxyd entsprechen, so entspricht 1 *cm*³ $^1/_{10}$-Normalpermanganatlösung = 1·7 *mg* Wasserstoffsuperoxyd. Ferner entsprechen 34 *g* Wasserstoffsuperoxyd = 5·5 *g* Mangan oder 1 *g* H_2O_2 = 1·62 *g* Mn. 1 *cm*³ der Wasserstoffsuperoxydlösung entspricht daher 2·754 *mg* Mangan, falls sie der $^1/_{10}$-Normalpermanganatlösung äquivalent ist.

---

[1]) Zeitschr. f. angew. Chem. S. 905 (1903).

Die Technik der Untersuchung des respiratorischen Gaswechsels beim gesunden und kranken Menschen.

Von **E. Grafe**, Heidelberg.

Über die Technik der Untersuchung des respiratorischen Gaswechsels sowie des Gesamstoff- und Kraftwechsels ist schon in den verschiedensten Abschnitten dieses Handbuches die Rede gewesen. *Johansson* hat die wichtigsten Grundzüge der respiratorischen und kalorimetrischen Methoden auseinandergesetzt (Bd. III, S. 1114), *Brugsch* die Prinzipien der allgemeinen Stoffwechseluntersuchungen (Bd. III, S. 994). Eine eingehende Beschreibung und Würdigung hat die wichtige *Zuntz-Geppert*sche Methodik durch *Franz Müller* gefunden (Bd. V^{II}, S. 1027).

Die folgenden Ausführungen gelten vor allem auch den Bedürfnissen des Klinikers, d. h. für Versuche auch an kranken Menschen. Es soll sich nicht darum handeln, alle vorhandenen Apparate und Versuchsmethoden zu schildern, die zur Untersuchung des Gesamtstoff- und Kraftwechsels literarisch fixiert worden sind, sondern nur darum, ein paar Methoden herauszugreifen, die dadurch ausgezeichnet sind, daß Billigkeit der Anschaffungskosten mit Einfachheit und weitgehender Genauigkeit der Durchführung sich verbinden. Zur eingehenden Besprechung und Beschreibung sollen daher nur solche Apparate und Methoden kommen, deren Brauchbarkeit gerade für Versuche am gesunden und kranken Menschen durch viele Erfahrungen sicher begründet ist.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß der vollständigste und exakteste Apparat für die Untersuchung des Gesamtstoff- und Kraftwechsels beim Menschen das große Respirationskalorimeter von *Atwater-Rosa-Benedict*[1] in seinen verschiedenen Typen ist. Die Beschaffungs- und Unterhaltungskosten dieses Apparates sind jedoch so groß und der Betrieb so kompliziert, daß für klinische Untersuchungen derartige Apparate zunächst wenigstens vollkommen ausscheiden. In Deutschland gibt es nur einen ähnlichen Apparat im tierphysiologischen Institut der landwirtschaft-

[1]) Carnegie Institution of Washington, Washington, D. C., U. S. A. Publication Nr. 42. 1905. Die zahlreichen Verbesserungen, Abänderungen und Versuche an und mit diesen oder ähnlich konstruierten Apparaten sind in den Publikationen des Instituts sowie im American Journal of Physiology beschrieben.

lichen Hochschule zu Bonn-Poppelsdorf, er ist nach dem Muster des amerikanischen Apparates von Professor *Hagemann* für große Tiere (Pferde, Kühe etc.) konstruiert.

Die Forderungen, die wir heute an einen, auch für klinische Zwecke leistungsfähigen Respirationsapparat stellen müssen, sind: 1. daß seine Anschaffungskosten 3–4000 M. nicht wesentlich überschreiten, 2. daß seine Handhabung einfach ist, zu seinem Betriebe 1, höchstens 2 Personen notwendig sind und 3. daß die Genauigkeit eine große ist.

Diesen Anforderungen entsprechen nun eine Reihe von Apparaten. Welches man sich im Einzelfalle bedient, hängt in erster Linie von der Frage ab, die man beantworten will, da wir noch über keine Universalrespirationskammer verfügen, die mit gleicher Exaktheit für Untersuchungen von 5—10 Minuten wie für 24 Stundenversuche zu benutzen ist.

Apparate für kurzfristige Versuche.

Die Anwendung solcher Apparate ist da angezeigt, wo es gilt, in kleinen Zeiträumen quantitative oder qualitative Änderungen des respiratorischen Gaswechsels festzustellen. Nur auf diese Weise ist es oft möglich, rasch vorübergehende Einflüsse der verschiedensten Art auf den Gaswechsel zu fassen, bei langdauernden Versuchen markieren sich solche vorübergehenden Schwankungen nur ganz geringfügig oder bleiben durch kompensatorische Einflüsse vollkommen verdeckt. Die eigentliche Domäne dieser Apparate ist das Studium des zeitlichen Ablaufes der Reaktionen des Organismus, z. B. auf Muskelarbeit, Nahrungsaufnahme, Medikamente, kurze klimatische Einflüsse (heißes Bad, Sonnenbestrahlung etc.). Hier hat uns vor allem die klassische Methode von *Zuntz-Geppert* die wichtigsten und interessantesten Aufschlüsse beschert.

Sobald man aus dem Verhalten des respiratorischen Gaswechsels in solchen kurzdauernden Versuchen Schlüsse auf die Änderungen des Gesamtstoffwechsels ziehen will, müssen ganz bestimmte Voraussetzungen erfüllt sein, auf deren strenge Innehaltung *Zuntz* und seine Schüler[1] stets gebührend hingewiesen haben. Sie gelten natürlich nicht nur für die Methode von *Zuntz-Geppert*, sondern für jeden kurzfristigen Versuch. Es darf sich nämlich das Atemvolumen, d. h. die in der Zeiteinheit eingeatmete Menge Luft, nicht wesentlich ändern. Jede Änderung in der Richtung bedeutet eine gegenüber der Kontrollperiode vermehrte oder verminderte Ventilation der Lungen, und so entstehen speziell für die Kohlensäure leicht enorme Fehler. Jede Zunahme des Atemvolumens führt notwendig zu einer vermehrten Ausschwemmung von Kohlensäure, jede Verminderung zur Retention dieses Gases. Die Sauerstoffaufnahme wird durch solche Änderung der Lungen-

[1]) Die wichtigsten Arbeiten von *Zuntz* und seinen Schülern mit der *Zuntz-Geppert*schen Methode finden sich bei *Magnus-Levy* in *v. Noordens* Handbuch der Pathologie des Stoffwechsels, Bd. 1, 1906, S. 198 u. ff., angeführt.

ventilation bedeutend weniger alteriert, so daß für den respiratorischen Quotienten oft Werte resultieren können, die durch keinerlei chemische Umsetzungen im Organismus erklärt werden können. Als Beispiel sei nur erwähnt, daß z. B. nach einer anstrengenden körperlichen Arbeit durch Steigerung der Lungenventilation die respiratorischen Quotienten in ganz kurzdauernden Versuchen bis 2·0, ja darüber hinaus ansteigen können. Es wäre selbstverständlich ganz falsch, aus solchen Werten irgend welche Schlüsse auf Stoffwechselvorgänge ziehen zu wollen. Ebensowenig ist es z. B. angängig, wenn bei einer körperlichen Arbeit mit steigendem Atemvolumen, das als notwendige Folge auftritt, der Wert für $\frac{CO_2}{O_2}$ gegenüber der Periode vorher ansteigt, z. B. von 0·8 bis auf 1·0, daraus zu folgern, daß nun die Umsetzungen im Körper qualitativ andere geworden sind, daß z. B. in dem erwähnten Falle mehr Kohlehydrate verbrannt sind.

Die Erkenntnis, daß es möglich ist, überhaupt aus dem Verhältnis der beiden wichtigsten Atemgase, CO_2 und O_2, Aufschlüsse auf die Qualität der Umsetzungen im Organismus zu gewinnen, verdanken wir *Eduard Pflüger*. Der Wert des Quotienten $\frac{CO_2}{O_2}$ wird um so höher ausfallen, je mehr Sauerstoff der zur Verbrennung gelangende Stoff selbst enthält, je weniger er also aus der Luft aufzunehmen braucht, um seine sämtlichen C-Atome zu CO_2 und seine sämtlichen H-Atome zu H_2O zu oxydieren. Daher ist der Wert für $\frac{CO_2}{O_2}$ unter den gewöhnlichsten Nahrungsmitteln am höchsten bei Zucker ($C_6H_{12}O_6$) und am niedrigsten für den Alkohol (C_2H_6O).

Die wichtigsten Zahlen sind folgende:

	$\frac{CO_2}{O_2}$
für Eiweiß . . .	= 0·82
„ Kohlehydrate .	= 1·00
„ Fett	= 0·71
„ Alkohol . . .	= 0·666

Je nach der Herkunft von Eiweiß und Fett schwanken die Werte etwas um die angegebenen Mittelzahlen.

Bei allen Krankheitsprozessen, bei denen Stoffwechselanomalien qualitativer Art in Frage kommen (z. B. Diabetes), ergeben kurzfristige Versuche notwendigerweise nicht immer ein richtiges Bild und gestatten keine sicheren Schlüsse weder in qualitativer noch in quantitativer Beziehung, wie vor allem *Rubner*[1]) betont hat (vgl. auch *Magnus-Levy*[2]).

Auf die Bedeutung abnorm hoher und abnorm tiefer Werte soll bei der Besprechung langdauernder Respirationsversuche eingegangen werden.

[1]) Gesetze des Energieverbrauchs bei der Ernährung. S. 358. Leipzig (1902).

[2]) *Magnus-Levy* in *C. v. Noorden*s Handbuch der Pathologie des Stoffwechsels. I. Aufl. Bd. 1. S. 210 (1906).

Hier sei nur betont, daß aus einer Änderung des respiratorischen Quotienten nur dann mit Sicherheit auf eine Änderung in den Verbrennungen geschlossen werden kann, wenn die Atemgröße konstant bleibt.

Die gleichen Erwägungen, wieder ganz besonders im Hinblick auf die Kohlensäure, stellen sich ein, wenn wir aus den Resultaten kurzdauernder Versuche zuverlässige Schlüsse auf quantitative Änderungen des Stoffwechsels ziehen wollen. Auch hier ist die Konstanz des Atemvolumens notwendige Voraussetzung für eine eindeutige Beurteilung.

Ein weiteres Anwendungsgebiet für kurzdauernde Respirationsversuche ist die Feststellung des sogenannten „Grundumsatzes". *Magnus-Levy*, der dies Wort geprägt hat, versteht darunter[1] die Mengen Sauerstoff und Kohlensäure, die von einem nüchternen, vollkommen ruhenden Organismus pro Minute und Kilogramm aufgenommen, beziehungsweise ausgeatmet werden. Es müssen also die beiden wichtigsten Faktoren eliminiert werden, die im Leben den größten, stets wechselnden Einfluß auf die Intensität der Verbrennungen haben, nämlich Nahrungsaufnahme und Muskeltätigkeit. Der Einfluß der ersteren ist leicht auszuschalten, man darf die Versuche erst vornehmen, wenn mindestens 12—14 Stunden seit einer größeren Mahlzeit verstrichen sind, da erfahrungsgemäß nach dieser Zeit die Steigerung der Verbrennungen infolge der Nahrungsaufnahme in der Regel ganz abgeklungen ist. Auf die Ausnahmen von dieser Regel soll hier nicht eingegangen werden. Zweckmäßig ist es, selbst bei einer zeitlich so weit vom Versuche getrennten Nahrung möglichst die Eiweißzufuhr zu beschränken, da gerade dieser Stoff am meisten die Verbrennungen steigert.

Schwerer ist es, in den Grundumsatzversuchen den Einfluß von Muskelbewegungen ganz auszuschalten. Es gehört dazu nicht nur eine große Übung, sondern auch sehr viel Selbstbeherrschung. Es liegt auf der Hand, daß Muskelbewegungen bei kurzfristigen Versuchen ganz anders störend wirken als bei langer Versuchsdauer, deshalb müssen sie bei exakten Versuchen unbedingt vermieden werden. Die Lage, in der solche Grundumsatzversuche ausgeführt werden, ist die horizontale, die Versuchsperson muß mit vollkommen erschlaffter Muskulatur bequem auf dem Rücken liegen. Es leuchtet ohneweiteres ein, daß diese Bedingung absoluter Muskelruhe bei kranken Menschen oft außerordentlich schwer, ja unter Umständen überhaupt nicht einzuhalten ist, so daß wohl manche in der Literatur niedergelegten Grundumsatzzahlen bei Kranken als Maximalwerte anzusehen sind.

Das außerordentlich große Untersuchungsmaterial, das zumal bei Gesunden bisher vor allem von *Zuntz* und seinen Schülern vorliegt, beweist, daß die gewissenhafte Einhaltung der beiden Hauptkautelen durchführbar ist und daß dann die Einzelversuche ganz ausgezeichnete Übereinstimmungen aufweisen. So konnte z. B. *Loewy*[2] feststellen, daß bei

[1] Vgl. z. B. in *v. Noordens* Handbuch der Pathologie des Stoffwechsels. Bd. 1. S. 222.

[2] *Loewy*, Deutsche med. Wochenschr. Nr. 39. S. 1794 (1910).

Menschen, die ganz besonders mit der Methode eingeübt waren, im Laufe von 20 Jahren der Grundumsatz nur in den engen Grenzen von ca. 10% schwankte.

Es ist nach dem Gesagten selbstverständlich, daß zur Feststellung des Grundumsatzes nicht ein Respirationsversuch von ca. ½stündiger Dauer ausreicht, sondern daß dazu mindestens 3—5 gut übereinstimmende Versuche, die zweckmäßig an verschiedenen Tagen angestellt werden, nötig sind.

Da für gute Versuche stets eine gewisse Einübung mit dem Apparate notwendig ist und speziell die Atmung durch ein Mundstück bei Kranken auf Schwierigkeiten stößt, ist die Anstellung exakter kurzfristiger Respirationsversuche bei Kranken oft sehr schwierig und begrenzt. Man findet daher auch bei Schwerkranken selten eine so gute Übereinstimmung der Parallelversuche wie bei Gesunden.

Es ist nach dem Vorgang von *Magnus-Levy*[1]) vielfach üblich geworden, kurzfristige Respirationsversuche zu kombinieren mit dem Werte der Stickstoffausscheidung von 12 oder 24 Stunden, um daraus z. B. im Hunger die Gesamtkalorienproduktion pro die zu berechnen. Die Art der Berechnung ist dabei eine ähnliche, wie wir sie später (S. 525) zu besprechen haben werden. Wenn man in dieser Weise verfährt und die Resultate eines ganz kurzen, unter ungewöhnlichen Bedingungen angestellten Respirationsversuches auf 24 Stunden umrechnet, so muß man dabei stets im Auge behalten, daß man dabei zu Werten kommt, die nur approximativ sind und auf große Exaktheit keinen Anspruch haben können.

Da sich die Bedingungen des Grundumsatzes niemals streng während 24 Stunden einhalten lassen, so ist es klar, daß der auf Grund derartig kurzfristiger Versuche berechnete Wert für die Gesamtwärmeproduktion eines Menschen pro Tag sich niemals mit deren tatsächlichen Größe deckt. Für Bilanzversuche und eine exakte Bestimmung der Wärmeproduktion sind derartige Versuche demnach ungeeignet, solche Fragen können nur durch langdauernde, am besten 24stündige Versuche entschieden werden. Tatsächlich hat auch die Berechnung der Wärmeproduktion auf Grund kurz dauernder Versuche keinerlei Vorzug vor der Reduktion der gefundenen Werte für Sauerstoff und Kohlensäure auf die Einheit von Zeit und Gewicht, da der kalorische Wert eines Liter Sauerstoffes nur um 4—5% um den Mittelwert schwankt, je nachdem ob vorwiegend Fett oder Zucker verbrannt wird.

Die Durchschnittszahlen für den Grundumsatz sind nach *Magnus-Levy*[2]) bei gesunden Männern von 60—70 *kg* Gewicht ca. 220—250 *cm*³ O_2 und 160—200 *cm*³ CO_2 pro Minute.

[1]) *Pflügers* Archiv. Bd. 55. S. 21 (1893).

[2]) *Magnus-Levy* in *C. v. Noordens* Handbuch der Pathologie des Stoffwechsels. Bd. 1. S. 222 (1906).

I. Die Methode von Zuntz-Geppert.

Es ist das das Prototyp und die klassische Methode kurzfristiger Respirationsversuche.

Prinzip: Die Versuchsperson atmet bei verschlossener Nase durch ein Mundstück, dessen zwei Ventile in der Weise funktionieren, daß das eine bei der Einatmung atmosphärische Luft eintreten läßt, während das andere der Exspirationsluft durch eine Schlauchleitung zu einer kleinen Gasuhr den Weg weist. Hier wird die während des Versuches durchstreichende Luftmenge zur Bestimmung des Atemvolumens gemessen. Vor dem Eintritt der Exspirationsluft wird durch eine Nebenleitung automatisch von der Gasuhr ein Teilstrom in Absorptionspipetten abgesaugt und in diesen nach den Methoden der Gasanalyse der Gehalt an Kohlensäure und Sauerstoff bestimmt.

Die Absorption der Kohlensäure geschieht dabei durch Kalilauge, die des Sauerstoffes durch Phosphor oder nach *Durigs* Vorschlag mit dem von *Franzen* empfohlenen Natriumhydrosulfid.[1])

Auf eine genauere Beschreibung des Apparates, der von *Zuntz* und seinen Schülern für Arbeitsversuche in eine ganz besonders handliche und bequeme Form gebracht worden ist, sowie die Durchführung der Berechnung kann hier verzichtet werden, da *Franz Müller* in Bd. V, S. 10, 27 u. ff. dieses Handbuches der genauen Besprechung der Methode einen eigenen Abschnitt gewidmet hat. Zur Orientierung für diejenigen, welche sich mit Respirationsversuchen beschäftigen und nach der jeweiligen Fragestellung ihre Methoden aussuchen wollen, seien hier nur kurz die Vor- und Nachteile der Methode geschildert.

Die Vorzüge der Methode von *Zuntz-Geppert.*

Diese sind außerordentlich groß und zahlreich, und es ist daher wohl begreiflich, daß diese Methode innerhalb der ihr gezogenen, oben erwähnten Grenzen lange Zeit hindurch nicht das Bedürfnis nach einer Verbesserung aufkommen ließ.

Die Methode ist in der Anschaffung und im Betrieb sehr billig, sie ist nicht sehr schwer[2]) zu erlernen und liefert bei aller Bequemlichkeit und Handlichkeit recht genaue Werte. Der mittlere Fehler der Einzelanalysen in der Hand geübter Untersucher beträgt für die Kohlensäure 0·01—0·03 Vol.-%, für den Sauerstoff 0·01—0·02 Vol.-%. Ein großer Vorteil der Methode ist fernerhin, daß sie sich den wechselnden Anforderungen, die die einzelnen Probleme an sie stellen, anpassen kann. Die ganze Apparatur ist transportabel und dann ist sie für besondere Zwecke, Untersuchungen im Hochgebirge, an der See etc. in eine äußerst bequeme

---

[1]) Biochem. Zeitschr. Bd. 4. S. 65 (1908). Näheres darüber auch bei *F. Müller*, Bd. 3, S. 628 dieses Handbuches.

[2]) Nur eine exakte Vornahme der Gasanalysen erfordert einige Übung und Geschicklichkeit.

Tornisterform gebracht, so daß sie für Versuche, die mit einer steten Ortsveränderung der Versuchsperson verknüpft sind, heute die einzige souveräne Methode darstellt. Das beweisen die Versuche von *Zuntz* und seinen Mitarbeitern über die Einwirkung des Höhenklimas[1] auf den Menschen aufs deutlichste.

Abgesehen von alledem läßt sich die Methode auch für Tierversuche leicht verwenden, indem man das Mundstück entweder durch eine luftdicht anschließende Gesichtsmaske ersetzt oder die Versuchstiere tracheotomiert.

Die Nachteile der Methode.

Davon, daß diese Methode nicht geeignet ist für eine exakte Untersuchung des Gesamtstoff- und Kraftwechsels, wurde schon gesprochen. Sie teilt dies Schicksal natürlich mit allen Methoden kurzfristiger Versuche. Theoretisch könnte man denken, mit ganz geringen Pausen einen Respirationsversuch an den anderen anzuschließen und so doch schließlich ein Gesamtbild des Stoffwechsels in einer langen Periode zu bekommen. Praktisch stellen sich dem jedoch unüberwindliche Schwierigkeiten entgegen. Einmal lassen sich die Bedingungen des Grundumsatzversuches überhaupt nicht lange hintereinander durchführen, und ferner wird das lang fortgesetzte Atmen durch ein Mundstück und das Anatmen gegen die Gasuhr auf die Dauer unerträglich.

Diese beiden letzteren Momente sind es auch, die vor allem bei der Untersuchung kranker Menschen sich oft als starke Mängel geltend machen. Die Folge der recht erheblichen, subjektiven Beschwerden der Methodik ist dann natürlich, daß die Exaktheit der Resultate leiden kann entweder durch völlig unvollständige Muskelruhe oder aber durch Ungleichmäßigkeit der Atemmechanik.

Am schwersten machen sich diese Übelstände bei Herz- und Lungenkranken, die so wie so an Dyspnoe leiden, geltend. Und bei solchen Kranken dürfte es überhaupt recht schwer sein, ganz zuverlässige Resultate zu bekommen.

Ferner hat man noch von theoretischen Gesichtspunkten aus zwei weitere Einwände gegen die *Zuntz-Geppert*sche Methodik erhoben: 1. Daß nicht das ganze Luftvolumen zur Analyse gebracht, sondern nur ein kleiner Teil und 2., daß die Bestimmung des Sauerstoffes eine indirekte ist, nämlich auf dem Umwege über den Stickstoff. Meiner Ansicht nach sind beide Einwände nicht von Bedeutung. Der zur Analyse kommende Teil der Luft ist ein verhältnismäßig großer Teil der Gesamtexspirationsluft und es ist nicht einzusehen, warum ein genau analysierter Teil einer gleichmäßig gemischten Luftmenge, von der stets automatisch der gleiche Teil entnommen wird, nicht ganz zuverlässige Schlüsse auf die Zusammen-

[1] *Zuntz*, *Loewy*, *Müller*, *Caspari*, Höhenklima und Bergwanderungen in ihrer Wirkung auf den Menschen. 1906.

setzung der Gasamtluftmenge gestatten sollte. Theoretische Erwägungen der Möglichkeit von Fehlerquellen müssen zurücktreten vor der Leistungsfähigkeit, welche die Methode in praxi beweist. Bestimmungen des durchschnittlichen Fehlers der Methode etwa durch Verbrennung einer bekannten Menge Stearin oder Alkohol sind allerdings nicht vorgenommen worden.

Daß die indirekte Bestimmung des Sauerstoffes etwas an Exaktheit dadurch leiden kann, da auch die eventuellen Fehler der Kohlensäurebestimmung hier mit in Betracht kommen, ist wohl richtig, die Bestimmung der Kohlensäure ist aber eine außerordentlich genaue und bedingt daher bei exakter Ausführung kaum erhebliche Fehler.

Von allen Einwänden, welche von den verschiedensten Seiten gegen die *Zuntz-Geppert*sche Methode erhoben worden sind[1], scheint mir am gewichtigsten derjenige zu sein, daß sie in einer Reihe von Fällen falsche Resultate angegeben hat. So ist z. B. auf Grund abnorm tiefer respiratorischer Quotienten, welche die verschiedensten Autoren[2]) in sehr zahlreichen Versuchen mit der *Zuntz-Geppert*schen Methode nahezu übereinstimmend im Fieber fanden, die Auffassung entstanden, daß im Fieber eine recht erhebliche quantitative Änderung des Stoffwechsels vorliege. Vielstündige Respirationsversuche ergeben aber ausnahmslos ganz normale Werte[3]) für Respirationsquotienten, so daß der Auffassung eines qualitativ gestörten Stoffwechsels der Boden entzogen wurde. Man könnte als Erklärung dieser merkwürdigen Divergenz der Resultate kurzdauernder und langdauernder Versuche annehmen, daß der fieberhafte Zustand zu einer natürlich nur vorübergehenden Störung des respiratorischen Gaswechsels – etwa im Sinne einer Retention von Kohlensäure – geführt habe. Da aber *Rolly*[4]) auch in ganz kurzdauernden Versuchen mit dem später zu besprechenden, modifizierten *Benedict*schen Apparate ganz normale Quotienten im Fieber fand, so können die kurzfristigen Versuche an sich wohl nicht die Ursache der fehlerhaften Resultate sein. *Magnus-Levy*[5]) glaubt, daß anormale respiratorische Quotienten, die weit unterhalb von 0·7 liegen, stets auf eine schlechte Methodik, insbesondere auf falsche Sauerstoffbestimmungen zurückzuführen seien. Wenn diese Erklärung gewiß auch für viele Fälle zutreffen mag, so ist es doch sehr merkwürdig, daß fast alle Autoren und darunter solche, die über eine außerordentliche Übung mit der Methode verfügen, nur im Fieber die unrichtigen Werte bekommen haben, bei denselben Menschen aber im nicht fiebernden Zustande ganz normale, die mit den in langdauernden Versuchen gewonnenen Zahlen genau übereinstimmten. Welches die Ursachen der unrichtigen, zu tiefen Werte in jedem Einzelfalle sind, ist heute noch eine offene Frage und nach-

[1]) Vgl. auch *Jaquet* in *Ascher-Spiros* Ergebnissen der Physiologie. Bd 2. S. 457 u. ff. (1903).

[2]) Lit. bei *Rolly*, Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. **95**. S. 74; Bd. **97**. S. 274 f. (1909).

[3]) *Grafe*, ebenda. Bd. **101**. S. 209 (1910).

[4]) Deutsches Arch. für klin. Med. Bd. **103**. S. 93 (1911).

[5]) In *v. Noordens* Handb. d. Pathol. d. Stoffwechsels. II. Aufl. Bd. 1. S. [illegible] 190[illegible]

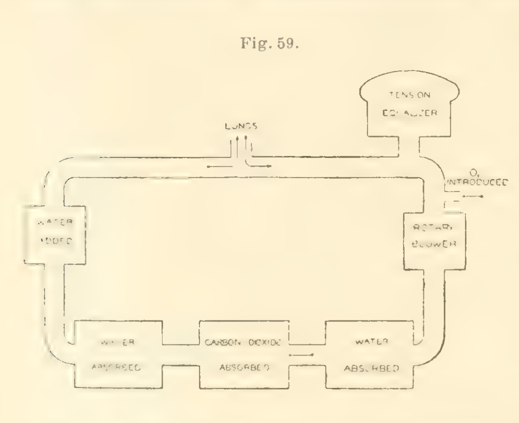
träglich ist es überhaupt kaum mehr zu entscheiden, ob die Methode als solche oder ihrer Handhabung daran schuld war. Immerhin ist für Untersuchungen im Fieber und ähnlichen im Fieber krankhaften Prozessen, die mit Veränderungen des respiratorischen Gaswechsels einhergehen, bei der Anwendung der *Zuntz-Geppert*schen Methode Vorsicht geboten. Eine vollkommen exakte Beherrschung der gasanalytischen Methode ist jedenfalls unbedingte Voraussetzung. Nach den Erfahrungen von *Benedict* und *Carpenter*[1]) ist es dringend notwendig, die Analysen sofort nach Beendigung eines Versuchs auszuführen, da sonst Kohlensäure vom Wasser absorbiert wird.

II. Apparate nach dem Regnault-Reisetschen Prinzip.

Der Apparat von *Benedict*[2]) und seine Modifikation durch *Rolly*.[3])

Prinzip: Die Versuchsperson ist mit ihren Lungen durch zwei luftdicht schließende Nasenansatzstücke oder eine Mundkappe in ein geschlossenes Rohrsystem eingeschaltet. Eine Rotationspumpe treibt die Luft ständig durch mehrere Absorptionsgefäße für Kohlensäure und Wasserdampf. In dem Maße, als beide Stoffe aus der zirkulierenden Luft verschwinden, wird Sauerstoff aus einer genau gewogenen Bombe in das System eingelassen. Um die durch die Inspiration und Exspiration bedingten Druckschwankungen auszugleichen, ist nahe der Stelle, an welcher die Versuchsperson durch eine kurze Nebenleitung mit dem Apparat verbunden ist, ein sogenannter Druckausgleicher in Form einer Gummikappe angebracht.

Fig. 59.



Schema der Anordnung des *Benedict*schen Apparates.

Zur Illustrierung des Gesagten sei eine kurze Skizze aus *Benedicts* Originalarbeit hier wiedergegeben (Fig. 59).[4])

[1]) Nach mündlicher Mitteilung.

[2]) Die erste Form des Apparates ist im American Journal of Physiology, Vol. **24**, p. 345—374 (1909) beschrieben worden, eine neue verbesserte Form kürzlich in voller Ausführlichkeit in deutscher Sprache im Deutschen Arch. f. klin. Med. Bd. **107**. S. 156 (1912). Die letztere Arbeit konnte leider nur zum Teil noch hier benutzt werden.

[3]) *Rolly* und *Rosiewics*, ebenda. Bd. **103**. S. 58 (1911). Nach liebenswürdiger Mitteilung von Herrn Professor *Rolly*-Leipzig betragen die Anschaffungskosten des Leipziger Apparates zirka 2100 Mk. Der Apparat ist von *E. Zimmermann*-Leipzig gebaut unter Grantie vollkommener Dichtigkeit.

[4]) In einer späteren Form des Apparates hat *Benedict* an Stelle des Druckausgleichers ein Spirometer (siehe folgende Seiten) eingeschaltet.

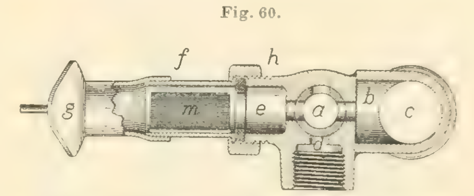
Die Pfeile geben die Richtung des Luftstromes an. Da der zur Eliminierung der Kohlensäure dienende Natronkalk auch Wasser aufnimmt, muß dieses durch Schwefelsäure vorher zurückgehalten werden. In gleicher Weise muß auch hinter den Natronkalk eine Vorlage mit Schwefelsäure in den Luftstrom eingeschaltet werden, weil dieser aus dem Natronkalk Wasser fortnimmt.

Die Kohlensäureproduktion berechnet sich in einfacher Weise durch Gewichtszunahme des Natronkalkzylinders und des hinter ihm geschalteten Schwefelsäurebehälters, der Sauerstoffverbrauch durch Gewichtsabnahme der Sauerstoffbombe.

Beschreibung der Apparate und der Versuchsmethodik.

Die Versuchsperson liegt auf einem Sofa oder im Bett in bequemer Rückenlage und atmet entweder mit geschlossenem Mund durch 2 Nasenkanülen *(Benedict)*, oder, wie *Rolly* es vorschlägt, durch eine Gesichtsmaske, ähnlich der von *Curschmann* früher angegebenen. Die Ansatzstücke werden durch ein bequem verschiebbares Gestell festgehalten. Die Ein- und Ausatmung kann nur in den Apparat erfolgen, nur zu Anfang und zu Ende des Versuches kann durch einen Dreiweghahn eine Kommunikation mit der Außenluft hergestellt werden. Die Einrichtung des Dreiweghahnes illustriert Fig. 60.

Fig. 60.



Durchschnitt durch Dreiwegventil, Anfeuchter und Mundstück auf $^2/_3$ verkleinert.
Das Dreiwegventil *(a)* ist durch ein T-Stück *(b)* mit dem Hauptluftrohre *(c)* verbunden. Das Mundstück *(g)* ist an dem den Anfeuchter *(m)* enthaltenden Metallrohre befestigt, das an das Dreiwegventil geschraubt wird.

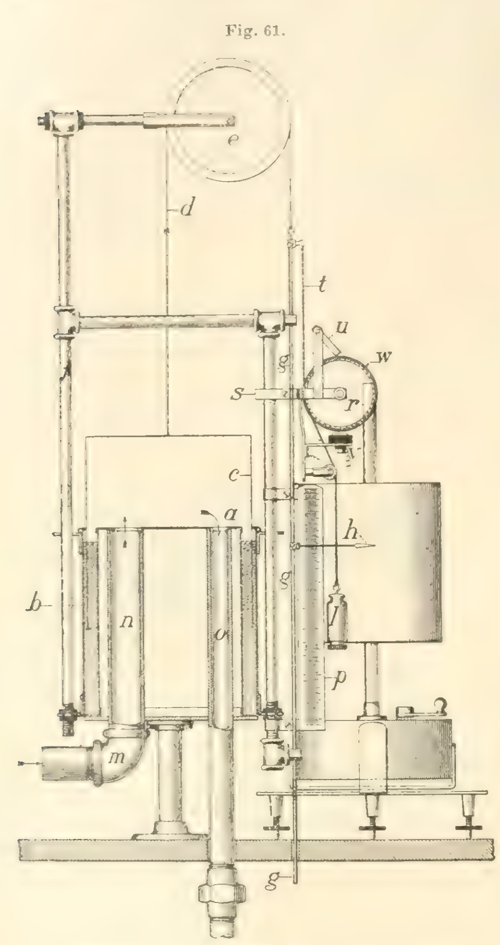
Wie bei der *Zuntz*schen Methode ist es auch hier zweckmäßig, die Versuchspersonen erst einige Zeit nach außen atmen zu lassen, um sie so an die Nasen- und Mundstücke zu gewöhnen. Die Atemgase mischen sich durch das möglichst kurz zu wählende Ansatzstück mit der Luft des geschlossenen Rohrsystems.

Da durch das Volumen der In- und Exspirationsluft in dem starren System, dessen Volumen sehr klein ist, erhebliche Druckschwankungen entstehen, hat *Benedict* kurz hinter dem Dreiweghahn einen Druckausgleicher angebracht. Dieser besteht im wesentlichen aus einem Kupferbehälter, dessen Boden mit dem Rohrsystem durch ein kurzes Ansatzrohr in Verbindung steht und dessen breite obere Öffnung mit einer absolut fest angeklebten Gummikappe überzogen ist, die bei der Inspiration eingezogen, bei der Exspiration vorgewölbt wird. In der jüngsten Beschreibung des Apparates[1]) ist an die Stelle des Druckausgleichers ein feines Spirometer zur Registrierung der Atembewegungen angebracht (Fig. 61). Die in das Rohrsystem hineingeatmete Luft wird hinter dem Druckausgleicher oder dem Spirometer von der Ventilations-

[1]) Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. **107**. S. 172.

pumpe gefaßt. Diese steht in einem Ölbehälter, so verrät sich sofort jede Undichtigkeit durch Aufsteigen von Gasblasen. Naturgemäß ist diese Stelle, an der die Druckunterschiede am größten sind, in der Richtung besonders gefährdet. Die Rotationspumpe enthält im Innern an einer exzentrischen Welle einen rundlichen Kolben, der die Luft in der kreisförmigen Kammer herumtreibt und schließlich durch eine Öffnung in deren Boden in das anschließende Rohr weiterschiebt [1]) (vgl. Fig. 62). Die Welle der Pumpe wurde durch einen Elektromotor mit Riemenübertragung getrieben.

Fig. 61.



Spirometer von *Benedict*, auf [illegible] verkleinert.
Die Glocke *(c)* des Spirometers wird in das Wasser in dem ringförmigen Raume zwischen den beiden Zylindern *(a)* und *(b)* getaucht. Die Luft kommt durch *(m)* herein und geht durch *(o)* heraus. An dem Stander *(h)* ist ein Rad *(e)* befestigt, über das ein Faden *(d)* läuft. An seinem freien Ende ist eine Stange *(g, g, g)* und das der Glocke das Gleichgewicht haltende Gewicht *(l)* befestigt. Der an der Messingstange *(ge)* befestigte Zeiger *(h)* schreibt auf dem Zylinder die Amplitude und den Charakter jeder einzelnen Respiration auf. *S* trägt ein Zählrad *(r)*, das durch die Reibung des Fadens *(t)*, an dem das Gewicht *(l)* hängt, gedreht wird. Eine kleine Sperrung *(u)* verhindert eine Rückwärtsbewegung des Rades. Der kleine Stromschließer *(w)* auf der Peripherie des Rades taucht in eine mit Quecksilber gefüllte Schale *(v)* und setzt einen Magneten in Bewegung.

Durch Einschaltung von Widerständen kann die Schnelligkeit des Ganges des Motors in beliebiger Weise variiert werden. Es empfiehlt sich, den Motor so zu regulieren, daß etwa 30—35 *l* pro Minute die Pumpe passieren. Da die Luft vor dem Eintritt in die Gefäße zur Absorption von Kohlensäure vollkommen trocken sein muß, weil der Natronkalk nicht nur Kohlensäure, sondern auch Wasserdampf gierig aufnimmt, passiert sie vorher mehrere Gefäße mit Schwefelsäure. *Benedict* hat dafür gewöhnliche dreihalsige *Woulf*sche Flaschen genommen, die etwa zur Hälfte mit Bimssteinstückchen und etwas Schwefelsäure gefüllt waren. Letztere soll nicht nur die Bimssteinstückchen

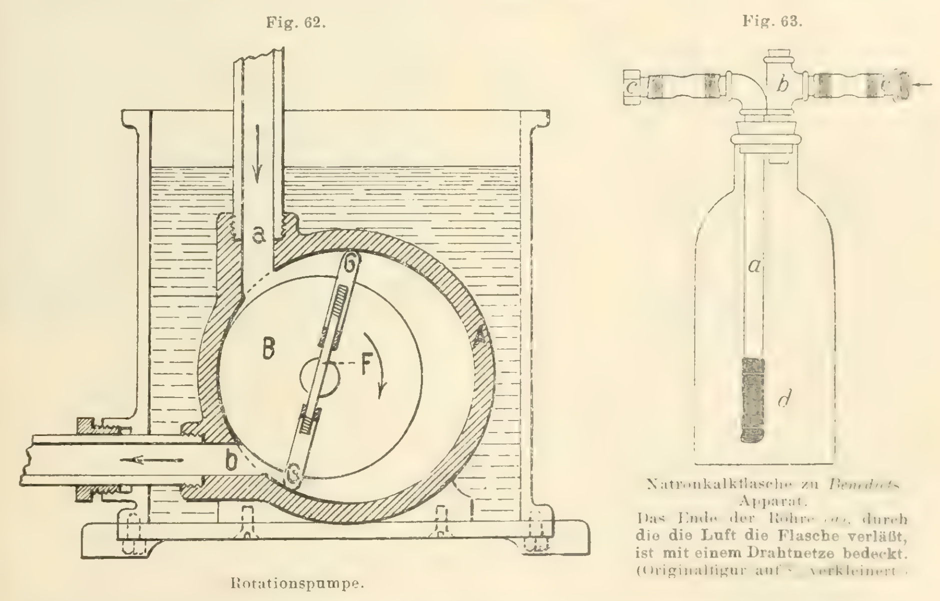
[1]) Die Firma *J. Gilmer Crowell Company* in Brooklyn, New-York, liefert solche Rotationspumpen unter der Marke Nr. 0. — D. Compressor in oil immersion box zu zirka 160 Mk.

netzen, sondern auch in nicht zu dicker Schicht den Boden der Gefäße bedecken.[1])

Um eine vollständige Absorption des Wasserdampfes mit Sicherheit zu garantieren und zu vermeiden, daß bei rascherer Ventilation Säurespritzer in die Rohrleitung hineinkommen, hat *Rolly* vorgeschlagen, statt der *Woulf*schen Flaschen *Kipp*sche Apparate zu nehmen, deren untere Kugel zu $^2/_3$ mit Schwefelsäure, die obere nahezu ganz mit Bimssteinstücken gefüllt werden. Es empfiehlt sich, mindestens zwei derartige Flaschen vorzuschalten. Die so vollkommen getrocknete Luft wird dann in den Natronkalkzylinder zur Absorption der Kohlensäure getrieben.

Dieser Zylinder besteht aus alkalifestem Metall (silberplattiertem Messing), ist 26 *cm* lang und 12 *cm* breit. Er wird mit feinkörnigem Natronkalk gestopft und der Deckel durch feste Schraubenzüge luftdicht aufgepreßt. Vor dem Gebrauch empfiehlt *Rolly* einige Zeit feuchte, kohlensäure-

Fig. 62. Fig. 63.



Rotationspumpe.

Natronkalkflasche zu *Benedicts* Apparat.
Das Ende der Röhre *(a)*, durch die die Luft die Flasche verläßt, ist mit einem Drahtnetze bedeckt. (Originalfigur auf [illegible] verkleinert.)

freie Luft zur Anfeuchtung des Natronkalkes hindurchzusaugen. Eine Füllung reicht für etwa 60—80 *g* Kohlensäure, d. h. 3—4 einstündige Versuche. Einfacher und billiger ist es, statt der Metalltrommel eine Flasche der in Fig. 63 abgezeichneten Art zu verwenden.[2])

---

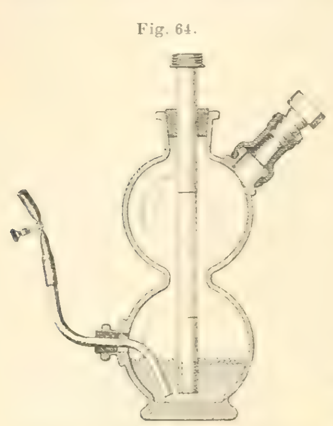
[1]) Zuletzt empfiehlt *Benedict* die *Woulf*schen Flaschen durch *William*sche Fl[illegible], wie die Vereinigten Fabriken für Laboratoriumsbedarf in Berlin sie zu 6 Mk. liefern, zu ersetzen. Es werden dabei zwei hintereinander geschaltet, wobei die erste leer ist, die zweite mit konzentrierter Schwefelsäure gefüllt ist.

[2]) Zur Bereitung eines besonders leistungsfähigen Natronkalkes empfiehlt *Benedict* folgendes Verfahren: 750 *g* trockenen Kalk und 750 *g* Natronhydrat werden [illegible] abgewogen, letzteres in 600 cm^3 Wasser in eisernem Kochtopf gelöst. Nach [illegible] Lösung wird unter gelindem Erwärmen der zerkleinerte Kalk hinzugesetzt und mit

Nach dem Absorptionszylinder muß die Luft einen zweiten Schwefelsäurebehälter passieren, der in gleicher Weise beschaffen ist wie der ersterwähnte. Hier verliert dann die Luft die Feuchtigkeit, welche sie aus dem Natronkalk mit fortgenommen hat.

Um die Luft dann wieder mit Wasserdampf zu sättigen, was wegen der Schonung der Schleimhäute der Versuchsperson und der Berechnung der später zu erwähnenden Gasanalysen nötig ist, strömt sie nun durch eine zweite *Kipp*sche Flasche, deren unterer Teil mit Wasser gefüllt wird, dem zur Neutralisation mitgerissener Schwefelsäure etwas Natriumbikarbonat zugesetzt wird. Die obere Kugel wird halb mit Bimssteinstückchen locker gefüllt. Das Zuleitungsrohr darf nur oben unter das Wasserniveau eintauchen. Als Luftanfeuchter hat *Benedict* eine Vorrichtung der in Fig. 64 abgebildeten Art empfohlen, jedoch genügt auch die in Fig. 60 bei *m* dargestellte Anfeuchtung mit nasser Leinwand.

Fig. 64.



Luftanfeuchter zu *Benedicts* Apparat.

Bevor nun die Luft zur Untersuchungsperson zurückkehrt, muß sie noch die Mündung von 2 Nebenleitungen passieren, die eine führt zu einem Manometer. *Benedict* empfiehlt das sehr empfindliche Petroleummanometer, bei dem ein Tropfen Petroleumextrakt aus Alkanawurzeln in einem gebogenen Kapillarrohr vor einer Skala hin und her gleitet, wie *Pettersson* es für seinen feinen Gasanalyseapparat empfohlen hat. *Rolly* zieht ein gewöhnliches Wassermanometer vor. Mit diesem Manometer wird der Druck im Apparat jeweils genau gemessen. Er muß so reguliert werden, daß er zu Anfang und Ende des Versuches stets der gleiche ist, d. h. der Alkanatropfen muß am Ende an der gleichen Stelle stehen wie zu Beginn, und das Gleiche gilt für den Meniscus des Wassermanometers.

Die zweite Nebenleitung führt zu einer kleinen Sauerstoffbombe aus Stahl. *Atwater* und *Benedict* haben zur Reinigung des Sauerstoffs einen geeigneten Reinigungsapparat eingehend beschrieben.[1] Man kann auch mit *Rolly* eine der gewöhnlichen Sauerstoffbomben des Handels, nur in etwas kleinerem Format (am besten nur von 3—5 *kg* Gewicht), gebrauchen. Notwendig ist nur, den Sauerstoff, der stets kleine Verunreinigungen mit Kohlensäure und Wasserstoff enthält, zu reinigen.[2]

---

einem Glasstab bis zum Löschen des Kalkes die Mischung vorsichtig umgerührt. Der Natronkalk muß etwas feucht sein. Ausgezeichneter Natronkalk wird von *König*, chemische Fabrik, Leipzig-Plagwitz, geliefert.

[1]) Carnegie Institution of Washington. Publication Nr. 42. S. 32 (1905).

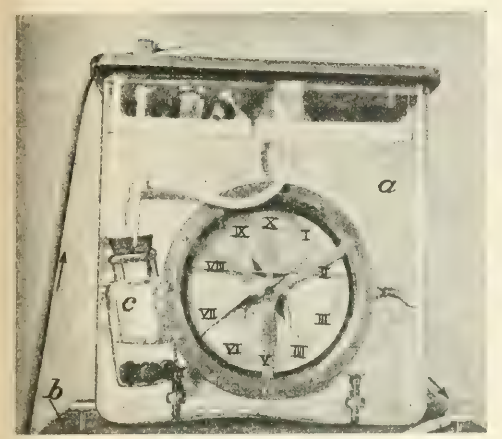
[2]) Von dem Stickstoffe, den der aus flüssiger Luft hergestellte Sauerstoff stets enthält, ist ein großer Teil Argon. *Morey*, Journ. Americ. Chem. Soc. **34**. p. 491 (1912). *Claude*, Compt. rend. **151**. p. 752 (1909).

Dies geschieht durch die Passage eines U-Rohres, das im Anfangsteil etwas Schwefelsäure eventuell mit Bimssteinstückchen enthält und im übrigen mit Natronkalk gefüllt ist.

Diese Reinigungsapparate bleiben stets in Verbindung mit der Bombe, auch beim Wiegen dürfen sie nicht von ihr getrennt werden.

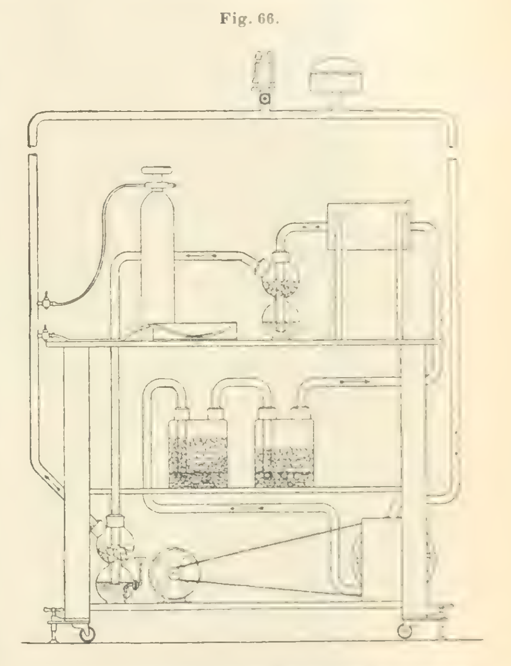
Die Sauerstoffbombe ist ferner mit einem Reduzierventil versehen, das die kontinuierliche Einleitung von Sauerstoff unter ganz geringem Druck ermöglicht. Der Zustrom von Sauerstoff aus der Bombe muß so reguliert werden, daß die Gummimembran des Druckausgleichers weder stark nach innen eingezogen, noch stark nach außen verwölbt wird, da soweit möglich wegen der so wie so schon hohen Anforderungen an vollständige Dichtigkeit des Apparates jede stärkere Abweichung von Atmosphärendruck im Inneren des Apparates unbedingt vermieden werden muß.

Fig. 65.



*Bohr*sche, unter Wasser stehende Gasuhr.
Der in die Röhre kommende Sauerstoff geht zuerst in die kleine Flasche *(c)* und dann in die in dem Glasgefäße *(a)* unter Wasser stehende Gasuhr. Das Brett *(b)* dient zum Nivellieren der Gasuhr.

Fig. 66.



Schematische Abbildung der sämtlichen Anordnung der einzelnen Teile des *Benedict*schen Apparates. (Die Pfeile geben die Ventilationsrichtung an.)

Da die Methode, den O_2-Verbrauch durch Gewichtsverlust zu bestimmen, zu Fehlerquellen Anlaß geben kann (Undichtigkeiten, besonders am Ventil etc.) und die Menge des Sauerstoffs schließlich doch in Volumeinheiten umgerechnet werden muß, rät *Benedict* neuerdings dazu eine unter Wasser versenkte Gasuhr zu nehmen.

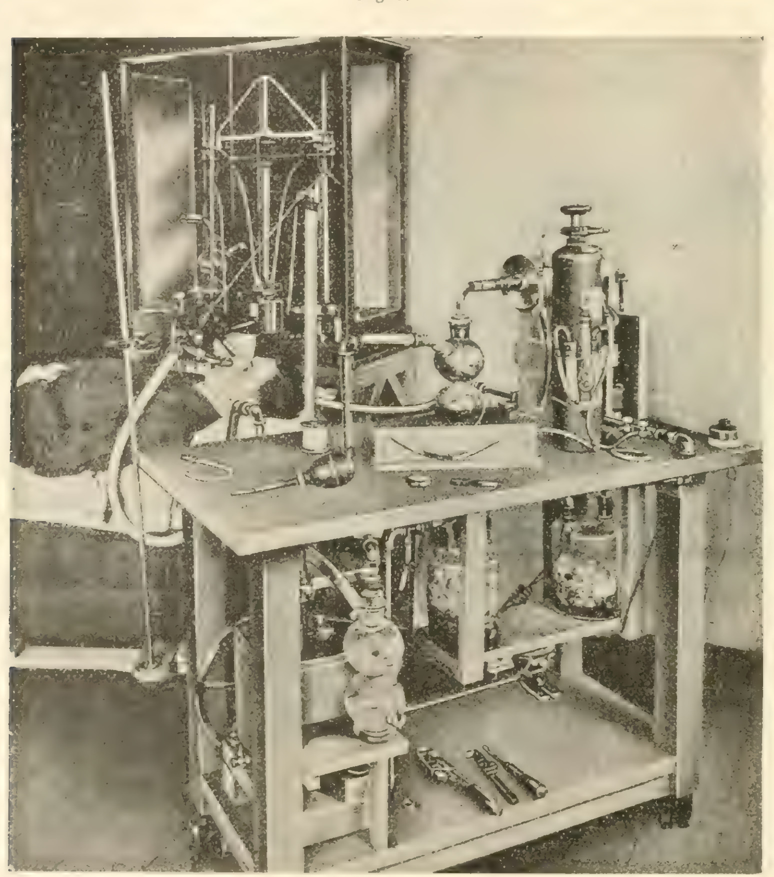
Am besten eignet sich dazu die *Bohr*sche[1]), die in Fig. 65 abgebildet ist.

[1]) Sie kann von der Dansk Maalerfabrik in Kopenhagen bezogen

Die Gasuhr wird in einer der später (S. 528) angegebenen Weisen geeicht.

Sämtliche erwähnte Apparate, deren Anordnung in Fig. 66 schematisch abgebildet ist, werden auf einem verstellbaren Tisch zur Aufstellung gebracht, die Leitung besteht aus Messingröhren (von ca. 16 *mm* Kaliber), nur da, wo es sich um abnehmbare Teile handelt, lassen sich Gummi-

Fig. 67.



Übersichtsbild über den in Tätigkeit befindlichen *Benedict*schen Apparat. (Ursprüngliches Modell.)

schläuche und Glasschliffe, die zweckmäßig mit Bajonettverschluß und federnden Spiralen, eventuell Quecksilberabdichtung versehen werden, nicht umgehen. Die Metallrohre werden unter Benutzung von Lederabdichtungen fest miteinander verschraubt.

Die zweckmäßigste räumliche Anordnung geht aus den nebenstehenden Abbildungen deutlich hervor. Fig. 67 stellt die zuerst beschriebene Form des *Benedict*schen Apparates dar, Fig. 68 die zuletzt angegebene

Einrichtung der Apparatur, Fig. 69 bringt die *Rolly*sche Modifikation zur Anschauung.

Der wichtigste Punkt bei der Konstruktion des Apparates ist vollkommene Luftdichtigkeit. Denn diese ist um so notwendiger, als im Apparat nicht Atmosphärendruck herrscht, sondern bedingt durch die Pumpe und die Atmung wechselnde Druckschwankungen, bei denen natürlich jede minimale Undichtigkeit die Versuchsresultate ganz besonders gefährdet.

Fig. 68.

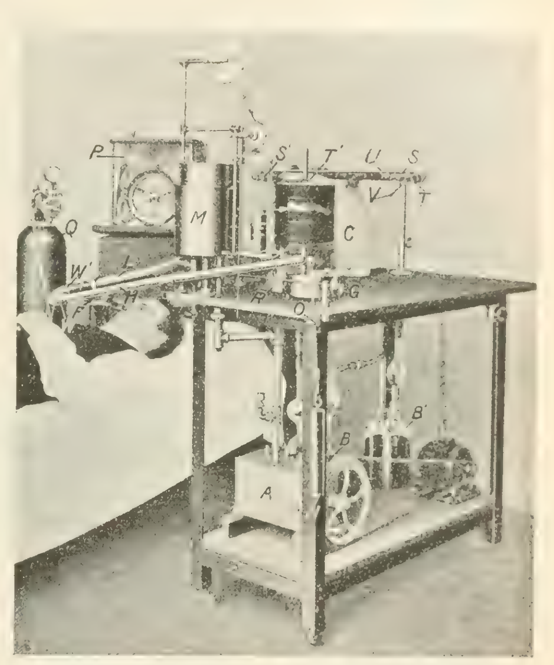


Bild des für Versuche mit Menschen bereit gemachten Universalrespirationsapparates von *Benedict*. (Neueste Form.) *A* Rotationspumpe. *B* und *B'* die zur Absorption des Wasserdampfes mit Schwefelsäure gefüllten *Wulff*schen Flaschen. *C* die zur Absorption der Kohlensäure mit Natronkalk gefüllte Flasche. *G* Griff zum Ausschalten des Dreiwegventils *F*. *M* Spirometer. *P* unter Wasser stehende *Bohr*sche Gasuhr. *O* Sauerstoffbombe. *R* mit Barytwasser gefüllte *Erlenmeyer*sche Flasche. *V* Hahnschlüssel. *T* die die beiden Ventile *S* und *S'* verbindende Stange. *W* und *W'* die Verschraubungen, die zur Verbindung des Apparates mit Respirationskammern bei Versuchen mit Tieren oder Säuglingen gebraucht werden.

Als Material für die Rohrverbindungen zwischen den einzelnen Teilen des Apparates werden am besten Glas- oder Metallrohre (Messing oder Eisen) genommen. Die Verwendung von Gummischläuchen ist auf ein Minimum zu beschränken, einmal im Interesse einer vollkommenen Dichtigkeit des Apparates, und dann auch, weil vielen Personen der Gummigeruch unerträglich ist.

Da die Apparate in erster Linie für kurze Grundumsatzversuche[1]) angegeben sind, die nur bei vollständiger Muskelruhe ganz exakt sind, empfiehlt *Benedict* die Anwendung besonderer Aufnahmeapparate, die eine ganz objektive Kontrolle der Muskeltätigkeit gestatten. Einmal können die Ausschläge des Spirometers (vgl. die Abbildung S. 462) graphisch registriert werden, ferner kann man zur Aufnahme der Bewegungen des Rumpfes und der Extremitäten Pneumographen[2]) um Brust und Gliedmaßen legen. Jede abnorme Bewegung ist in den mit Zeitmarkierung versehenen Kurven sofort ablesbar.

---

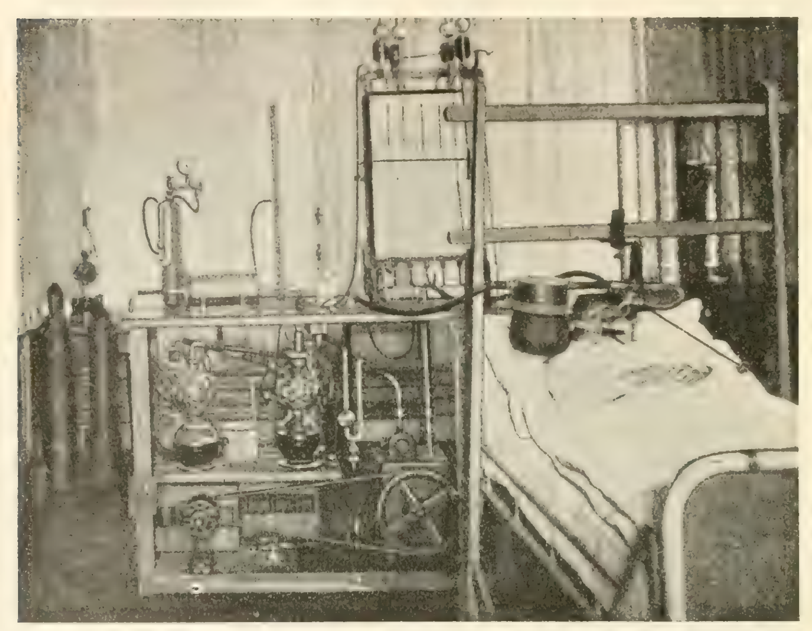
[1]) Die *Rolly*sche Modifikation ist durch Einschaltung einer den gesamten Menschen aufnehmenden Kammer auch für langdauernde Versuche brauchbar. Vgl. darüber S. 520.

[2]) *Benedict*, Deutsches Arch. f. klin. Med. l. c. S. 188.

Auch der Puls soll nach *Benedict* vermittelst eines flach der Herzspitze anliegenden Stethoskops (von *Bowles*), das durch einen langen Gummi-



Fig. 69.



Modifizierter *Benedict*scher Respirationsapparat von *Rolly* und *Rosiewicz*. Gesamtansicht.

schlauch mit dem Ohr des beobachtenden Arztes verbunden ist, alle 1—2 Minuten gezählt werden.

Der Gang eines Versuches.

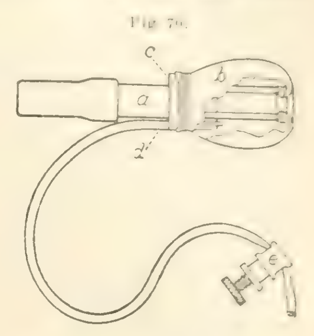
Die Versuchsperson liegt in bequemer Rückenlage auf dem Versuchsbett. Sie atmet bei verschlossenem Munde durch 2 Nasenoliven *(Benedict)* oder durch eine Gesichtsmaske *(Rolly)*.

Die Art der Nasenoliven geht aus Fig. 70 aus *Benedicts* Arbeit hervor. Sie besteht aus einem Glasrohr *A*, das zum Respirationsapparat führt, darüber ist an einem zweiten Glasstück *C* eine Gummikappe derart befestigt, daß durch Aufblasen eines kurzen Ansatzschlauches *D* die Gummimembran sich von dem Rohr *A* abheben läßt. Je nach der Weite der Nasenöffnungen wird dann der Gummischlauch stärker oder schwächer aufgeblasen und so in jedem Falle ein luftdichter Abschluß der Olive im Nasenloch erzielt. Durch eine aufgesetzte Klemme wird das Entweichen von Luft aus dem Gummischlauch verhindert.

Rolly haben sich die *Benedict*schen Nasenstücke nicht bewährt; er bedient sich einer etwas modifizierten *Curschmann*schen Gesichtsmaske

(Fig. 71) aus Metallblech, der eine Teil läuft in ein Rohr (1) aus zur Verbindung mit dem Apparat, der erweiterte Teil liegt dem Gesicht an und wird in seiner Stellung durch zwei Gummibänder, die um den Kopf herumgelegt werden, fixiert. Am Rande der Maske läuft ein aufblasbarer Gummischlauch, der mit einem besonderen Klebstoff (Bleipflastermasse mit 10% Zusatz von warmen Adeps lanae) luftdicht auf die Gesichtshaut aufgeklebt wird. Der Rauminhalt der Maske beträgt inklusive Verbindungsschlauch 120 *cm*³.

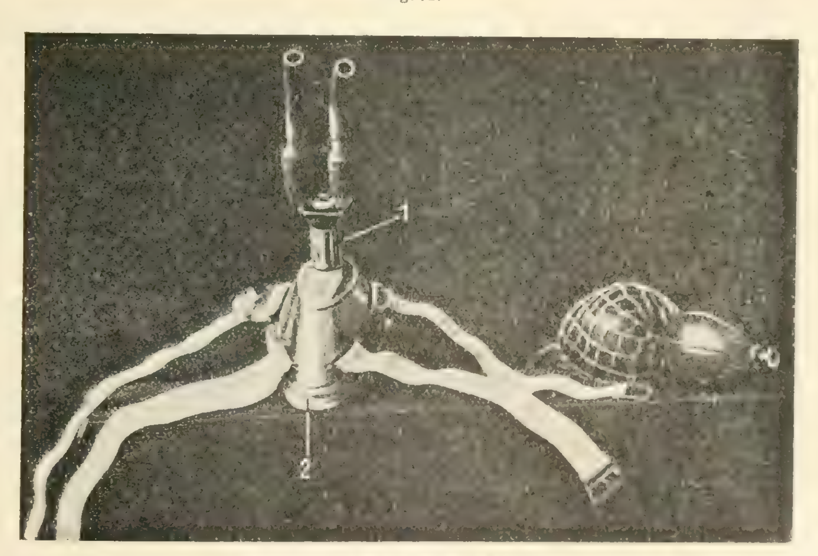
Fig. 70.



*Benedict*sche Nasenolive.
Ein Gummifingerling (*b*) ist an einem Glasrohre (*a*) festgebunden und mit Luft aufgeblasen, die durch eine kleine, durch den Gummipfropfen gesteckte Glasröhre gepreßt und mit einer Klemmschraube (*e*) festgehalten wird.

An die, wenn auch geringe Behinderung der Atmung durch diese Ansatzstücke muß die Versuchsperson sich gewöhnen, ehe der eigentliche Versuch nach ca. 30 Minuten beginnen kann. Sie atmet während des Vorversuches zunächst durch den nach außen gestellten Dreiweghahn atmosphärische Luft. Puls und Atmung kann man entweder direkt in gewöhnlicher Weise feststellen oder, um psychische Beeinflussung ganz auszuschalten, durch ein *Bowles*sches Stethoskop bzw. einen Pneumographen ganz unauffällig registrieren.

Fig. 71.



Gesichtsmaske von *Rolly* und *Rosiewicz*.
1 stellt das Verbindungsrohr nach dem Respirationsapparate dar, *2* einen aufblasbaren Gummischlauch, der im Versuche das Gesicht (Mund- und Nasengegend) luftdicht abschließen muß.

Während der Vorperiode wird der Motor der Pumpe in Gang gesetzt und die Luft im Apparate durcheinander gemischt, dann wird aus der

vorher genau gewogenen Bombe soviel Sauerstoff hinzugegeben, daß am Druckausgleicher und am Manometer ein ganz geringer positiver Druck angezeigt wird. Nachdem dieser genau notiert ist, wird die Verbindung des Manometers (vgl. Fig. 67) mit der Hauptleitung gesperrt. Am Ende einer gewöhnlichen (*Benedict*) Exspiration der Veruchsperson wird dann durch Umdrehung des Dreiweghahns die Verbindung des Nasenstückes bzw. der Gesichtsmaske mit dem Apparat hergestellt, der Motor wieder angedreht; die nächste Inspiration saugt somit schon Luft aus dem Apparate an. Während des Versuches wird der Gang des Motors so reguliert, daß die Geschwindigkeit des Luftstromes etwa 35 *l* pro Minute beträgt. Durch Thermometer, die an verschiedenen Stellen luftdicht in den Apparat eingefügt sind, läßt sich fortlaufend die Temperatur messen. Sobald man merkt, daß am Druckausgleicher die Gummimembran einsinkt, muß aus der Sauerstoffbombe vorsichtig Luft zugegeben werden, bis die Gummikappe wieder etwas vorgewölbt ist. Je länger der Versuch dauert und je größer das Gewicht der Versuchsperson ist, desto häufiger muß Sauerstoff zugelassen werden. Gegen Ende des Versuches ist streng darauf zu achten, daß nicht zu viel Sauerstoff zugelassen wird, da dann eine Einstellung auf den Druck zu Anfang des Versuches unmöglich ist, ohne Luft aus dem Apparate herauszulassen. Dies muß aber wegen des unkontrollierbaren Fehlers für die Berechnung auf jeden Fall vermieden werden. Während des Versuches darf die Versuchsperson nicht einschlafen, da im Schlafe der Stoffwechsel etwas absinkt. Man muß daher ihre Aufmerksamkeit in irgend einer Weise wach halten. *Benedict* empfiehlt, wenn die Gefahr des Einschlafens besteht, sie aufzufordern, alle Minute auf den Knopf einer elektrischen Klingel zu drücken.

Zu Ende des Versuches, dessen Dauer gewöhnlich 10—60 Minuten beträgt, wird die Versuchsperson wieder am Ende einer Exspiration durch Drehung des Dreiweghahns ausgeschaltet und atmet wieder Außenluft. Der Motor bleibt noch einige Minuten in Gang, damit alle im Apparat vorhandene Kohlensäure absorbiert wird.

Um starke Druckschwankungen und ein eventuelles Zurücksteigen der Schwefelsäure nach der Pumpe hin zu verhindern, muß der Motor langsam abgestellt gehen. Um ganz sicher eine Schädigung der Leitung oder der Pumpe durch Säure beim Abstellen des Motors zu vermeiden, hat *Rolly* noch eine Kugel zwischen Pumpe und 1. *Kipp*schen Schwefelsäureflasche zwischengeschaltet.

Die gewöhnlichsten Ursachen der Undichtigkeit sind fehlerhafte Gummiringe in den Verbindungsstücken. Um zu ermöglichen, daß der Luftdruck in sämtlichen Abteilungen des Apparates zu Anfang und zu Ende eines Versuches der gleiche ist, was im Interesse der Genauigkeit der Sauerstoffbestimmungen sehr wünschenswert ist, hat *Rolly* Nebenleitungen mit Gummischläuchen angebracht, welche an den *Kipp*schen Flaschen Ein- und Ausstromstelle miteinander verbinden. Diese sind während des Versuches durch Klemmen abgesperrt, durch Öffnen der Klemmen am Schlusse des Versuches wird die Druckdifferenz zwischen Ein- und Austrittstelle sofort ausgeglichen.

Nachdem man einige Zeit gewartet hat, bis auch die Temperatur sich im ganzen Apparate ausgeglichen hat (durch Erwärmen bzw. Abkühlen der kälteren bzw. wärmeren Teile des Apparates läßt sich das beschleunigen), läßt man aus der Sauerstoffbombe vorsichtig so viel Gas in den Apparat einströmen, bis das Petroleum bzw. das Wassermanometer genau denselben Stand zeigt wie zu Beginn des Versuches.

Wie schon oben erwähnt genügt niemals ein einziger derartiger Versuch zur Feststellung des Grundumsatzes, sondern es müssen mindestens zwei gut übereinstimmende vorliegen. Die Prüfung der Dichtigkeit des Apparates geschieht bei dem neuesten *Benedict*schen Modell[1]) dadurch, daß man bei Anstellen der Rotationspumpe in dem nach außen abgeschlossenen Apparate den Zeigerstand am Spirometer genau beobachtet. Ist der Apparat dicht, so darf die Stellung des Zeigers während der Prüfung sich nicht ändern.

Berechnung der Resultate.

Die Berechnung der Resultate nach *Benedicts* Methode ist außerordentlich einfach. Vor Beginn des Vorversuches und zu Ende des Versuches werden luftdicht verschlossen der Zylinder mit Natronkalk sowie die dahinter geschaltete *Kipp*sche oder *William*sche Flasche, ferner die Sauerstoffbombe mit Ansatzstücken auf einer bei großer Belastung sehr empfindlichen Wage[2]) genau gewogen.

Die Menge der während des Versuches gebildeten Kohlensäure ist gleich der Gewichtszunahme, welche Natronkalkzylinder und *Kipp*sche Flasche zusammen erfahren haben.

Zur Umrechnung der Kohlensäure *g*-Werte in *l*-Werte ist die Gewichtszunahme in *g* mit der Zahl 0·509 zu multiplizieren.

Da der Sauerstoffgehalt der Bombe nicht 100% beträgt, sondern meist nur 95—97%, genügt die Feststellung der Gewichtsabnahme nicht allein zur Feststellung des im Versuch verbrauchten Sauerstoffs. Es muß eine Korrektur angebracht werden für den Stickstoff, der die Hauptmenge der Verunreinigung darstellt. Da durch Gasanalyse die Zusammensetzung der Luft für jede Bombe, wie schon oben erwähnt, ermittelt wird und das Gewicht eines Liters N bekannt ist, macht die Umrechnung keine Schwierigkeit (vgl. ein Beispiel der Ausrechnung auf S. 474). Bei Verwendung der *Bohr*schen unter Wasser versenkten Gasuhr ist ein Wägen der Sauerstoffbomben nicht notwendig. Es genügt für die O-Berechnung, wenn man die Zusammensetzung der Bombenluft sowie den Stand der Gasuhr zu Anfang und zu Ende des Versuches kennt.

Die Voraussetzung für die Richtigkeit der ganzen Berechnung ist, daß das Volumen des Apparates zu Anfang und zu Ende des Versuches nahezu konstant ist.

---

[1]) l. c. S. 186.

[2]) Die Firma *August Sauter* in Ebingen, Württemberg, stellt derartige Wagen mit Wagebalken aus Aluminium, die bei 10 *kg* Belastung 0·01 *g* genau angeben, für 160 Mk. her. Versehentlich steht in der deutschen Beschreibung des Apparates (l. c. S. 181, Z. 18) 0·1 *g* statt 0·01 *g*.

Dies scheint allerdings ohne besondere Vorsichtsmaßregel besonders beim ersten Versuch einer Serie nicht immer genau der Fall zu sein, wie *Rolly* mit Recht hervorhebt. Temperatur und Druckdifferenzen während der Versuchszeit können hier eine Veränderung hervorrufen. Da die Schwankungen des Luftdruckes während der kurzen Versuchszeit in der Regel so minimal sind, fallen sie höchstens in der 2. Dezimale des prozentualen Versuchsfehlers ins Gewicht. Etwas größere Änderungen ruft eine stärkere Temperaturschwankung hervor. So berechnet *Rolly*, daß bei Zunahme der Temperatur des Apparates um 1° bei einem Volumen von 18.100 *l* die Verkleinerung 66 *cm* beträgt.

Unseres Erachtens gelingt es aber vielleicht, in einem eventuell durch besondere Regulationsapparate konstant temperierten Zimmer während der kurzen Versuchszeit die Temperatur konstant zu halten, eventuell müßte man einige Zeit warten, bis das Innere des Apparates wieder die Ausgangstemperatur, welche identisch ist mit der Zimmertemperatur, angenommen hat.

Wenn die Einwände von *Rolly* theoretisch auch zweifellos berechtigt sind, so haben doch die Kontrollverbrennungen *Benedicts* mit Äther (vgl. S. 536) in seinem Apparate die glänzende praktische Genauigkeit erwiesen, z. B.:

	gefunden	berechnet
CO_2	11·62 *gm*	11·71 *gm*
O_2	12·78 „	12·78 „
$\frac{CO_2}{O_2}$	0·662 „	0·666 „

Um auch den theoretischen Einwänden gerecht zu werden, entnimmt *Rolly* zu Anfang und zu Ende eine Luftprobe aus dem Apparate und analysiert sie nach der *Zuntz-Geppert*schen Methode. Ferner stellt er das Volumen des Apparates fest, indem er die Luft zu Anfang analysiert und dann nach Zugabe einer bestimmten Menge Luft aus der Sauerstoffbombe die Zunahme der Sauerstoffkonzentration in einer zweiten Analyse feststellte. Aus der Anfang- und Endkonzentration des Sauerstoffs sowie der Menge der zugeführten Luft bzw. des Sauerstoffs kann dann in einfacher Weise (Beispiel siehe bei *Rolly* [1]) das Volumen des Apparates berechnet werden.

Im Folgenden seien als Beispiel für die Berechnung des Versuches zwei Protokolle mitgeteilt.

I. Beispiel der Berechnung eines Versuches mit dem *Benedict*schen Apparat. [2])

[1]) l. c. S. 78.

[2]) Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. **107**. S. 197 (1912).

Respirationsversuch Nr. 1.
Größe 160 *cm.*
2. Juni 1911, 2 Uhr 16 Minuten nachmittags.
Stand des Gasmessers am Ende des Versuches . . . . 4·390 *l*
Stand des Gasmessers bei Beginn des Versuches . . . . 0·905 *l*
gemessener O_2 . . . . 3·485 *l*

Versuchsperson Frl. P. (Diabetiker).
Gewicht ohne Kleider 36·9 *kg.*
Dauer 14 Minuten 40 Sekunden.

Gewicht der Absorptionsgefäße am Ende . . . . 5262·26 *g*
Gewicht der Absorptionsgefäße bei Beginn . . . . 5258·18 *g*
absorbierte CO_2 . . . . . 4·08 *g*

Barometer 756·1 *mm*, Temperatur des Gasmessers 22·5° C.

log des Faktors für den Messer . . . . . . = 9·98786—10
log 3·485 *l* . . . . . . = 0·54290
„ Druck . . . . . . = 9·98601—10
„ Temperatur . . . = 9·96554—10
„ korrig. O_2-Volumen = 30·48161—30
„ O_2-Volumenkubikzentimeter . . . . . = 3·48161
log Zeit 14 Min. 57 Sek. = 1·16643
2·31518
= 207 cm^3 O_2 pro Minute.

log Gewicht CO_2 . . . = 0·61066
„ 5·091 . . . . . . = 9·70680—10
„ des CO_2-Volumen . = 0·31746
„ „ O_2- „ . = 0·48161
„ „ respiratorischen Quotienten . . . . . = 9·83585—10
Respiratorischer Quotient = 0·69
log des CO_2-Volumenkubikzentimeter . . = 3·31746
log Zeit 14 Min. 57 Sek. = 1·16643
2·15103
= 142 cm^3 CO_2 pro Minute.

II. Protokoll und Berechnung eines Versuches mit *Rollys* Apparat.[1])

Versuch vom 29. August 1910.

R., Körpergewicht 102·05 *kg.*

Versuch wurde 4½ Stunden nach dem Mittagessen und ½ Stunde nach dem Kaffee ausgeführt.

Kohlensäureabsorptionssystem Nr. 2.

Die erste Schwefelsäureflasche wurde während des Versuches künstlich abgekühlt.

Beginn: 6 Uhr 18 Minuten nachmittags.
Temperatur: 19·4° C.
Temperatur im Apparate: 19·3° C.
Barometer (red.): 747·57.
Manometer = 30 *mm* H_2O = 2·21 *mm* Hg.
Gesamtdruck im Apparate = 749·78.
Volumen des Apparates = 18.100 cm^3.
Bei 19·3° + 749·78 = 16.678 cm^3.
Versuchsdauer: 28 Minuten.

Schluß: 6 Uhr 46 Minuten nachmittags.
Temperatur: 19·4° C.
Temperatur im Apparate: 19·4° C.
Barometer (red.): 747·57.
Manometer = 30 *mm* H_2O.
Gesamtdruck im Apparate = 749·78.
Volumen des Apparates = 18.100 cm^3.
Bei 19·4° + 749·78 Druck = 16.673.

	Gewicht des O-Zylinders	CO_2		Luftanalyse der Innenluft des Apparates		
		Gewicht des Natronkalkzylinders	Gewicht der Schwefelsäureflasche	O	N	CO_2
				Prozente		
Am Anfang . . .	5761·662	6476·555	7322·795	20·85	79·15	0
Am Ende	5747·270	6485·455	7329·710	19·5	86·5	0
Differenz	— 14·392 *g*	+ 8·900	+ 6·915			
		+ 15·815				

[1]) Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. **103**. S. 84 (1911).

Im Laufe des Versuches sind also 14·392 *g* des von der Kohlensäure und dem Wasser befreiten Sauerstoffes aus dem Sauerstoffzylinder in den Apparat eingeleitet worden. Da dieser Sauerstoff außerdem noch 2·3 Volumenprozente (Mittel aus 4 Analysen) oder 2·024 Gewichtsprozente Stickstoff enthält, so sind in 14·392 *g* Bombensauerstoff 14·1 *g* reiner Sauerstoff und 0·292 *g* Stickstoff enthalten. Auf Volumina umgerechnet gibt dies:

$$14{\cdot}1\,g\ O_2 = 9870\,cm^3\ O_2$$
$$0{\cdot}292\,g\ N_2 = 232{\cdot}9\,cm^3\ N_2$$
$$15{\cdot}815\,g\ CO_2 = 8049{\cdot}9\,cm^3\ CO_2.$$

Da nun sowohl im Beginn des Versuches als auch am Ende desselben, wie Kontrollanalysen außerdem noch ergeben haben, keine Kohlensäure in dem Apparat vorhanden war, so stellt die letzte Zahl die gesamte von der Versuchsperson exhalierte Kohlensäure dar:

Volumen 1. 18·100; bei 19·3° C und 749·78 *mm* Hg = 16.678 cm^3

Volumen 2. 18·100; bei 19·4° C und 749·78 *mm* H = 16.673 cm^3.

Sauerstoffmenge im Apparate:

$$\text{Am Anfang: } \frac{20{\cdot}85^0 \,.\, 16.678}{100} = 3477{\cdot}5\,cm^3$$

$$\text{am Ende: } \frac{19{\cdot}5 \,.\, 16.673}{100} = 3251{\cdot}1\,cm^3$$

Differenz: 226·4 cm^3

Sauerstoffverbrauch:

1. Aus dem Sauerstoffzylinder . . . . = 9.870 cm^3
2. Aus dem Apparate . . . . = 226·4 cm^3

10.096·4 cm^3

$$\text{Respiratorischer Quotient (R . O}_2) = \frac{CO_2}{O} = \frac{8.049{\cdot}3}{10.096{\cdot}4} = 0{\cdot}7991.$$

Stickstoffbilanz:

Stickstoffmenge im Apparate:

Im Anfange . . . . 13.200·5 cm^3

Am Ende . . . . 13.421·9 cm^3

Differenz . . . . = + 221·4 cm^3

gefunden . . . . 221·4 cm^3

berechnet . . . . 232·9 cm^3

Differenz: = — 11·5 cm^3

N-Bilanz = — 11·5 cm^3 = 0·11% des verbrauchten Sauerstoffes.

O_2-Verbrauch in der Min. cm^3	CO_2-Produktion in der Min. cm^3	O-Verbrauch pro Min. und *kg*	CO_2-Produktion pro Min. und *kg*	R . Q_2	N-Bilanz cm^3
359·8	287·5	3·525	2·82	0·7991	— 11·5

Die Vor- und Nachteile des *Benedict*schen Apparates.

Die meisten Fehlerquellen seines Apparates bespricht *Benedict* selbst sehr eingehend. Sie beziehen sich im wesentlichen auf die oben erwähnten Punkte, Schwankungen von Temperatur, Barometer sowie Feuchtigkeitsgehalt. Durch diese Faktoren können allerdings, besonders beim ersten Versuch einer längeren Serie, Fehler entstehen, aber sie sind meistens bei kurzdauernden Versuchen so unerheblich, daß sie quantitativ kaum ins Ge-

wicht fallen. Das gleiche gilt für die Veränderungen der Residualluft. Es bleibt bei der letzten Exspiration immer ein kleiner Teil der Luft in den Lungen zurück und wird darum nicht mitbestimmt. Die absoluten Werte werden dadurch nur minimal, und nur dann, wenn die Residualluft zu Anfang und zu Ende verschiedene Zusammensetzung hat, der respiratorische Quotient gar nicht alteriert. Die größte Fehlerquelle ist naturgemäß eine Undichtigkeit im Apparat, berührt wird dann vor allem die Sauerstoffbestimmung, die dann notwendig ganz falsch werden muß, während die Kohlensäurebestimmung nur unwesentlich geschädigt wird. Auf eine weitere mögliche Fehlerquelle hat kürzlich *Rolly*[1]) aufmerksam gemacht. Sie wäre dadurch gegeben, daß wegen Fehlen besonderer Nebenverbindungen in den einzelnen Teilen des Apparates verschiedener Luftdruck herrschen kann, was die Genauigkeiten der O-Bestimmung gefährden kann.

Der Hauptvorteil des Apparates besteht zweifellos darin, daß er dem oft geäußerten theoretischen, wenn auch praktisch nicht gerechtfertigten Einwande gegen die Teilstromanalyseapparate begegnet, indem sämtlicher verbrauchter Sauerstoff und sämtliche gebildete Kohlensäure direkt mit der Wage bestimmt wird.

Ferner verbindet er mit sehr weitgehender Genauigkeit eine außerordentliche einfache Handhabung. Die Technik ist außerordentlich leicht zu erlernen. Die einzige Schwierigkeit besteht wohl darin, den Apparat wirklich absolut luftdicht zu bekommen und stets so zu halten. Da ja 2mal in jedem Versuch der Apparat teilweise auseinander genommen wird, ist natürlich stets die Gefahr einer Undichtigkeit gegeben.

Als besonderen Vorteil der Methode möchte ich hervorheben, daß er da, wo die *Zuntz-Geppert*sche Methode bisher versagt hat, z. B. im Fieber, wie *Rolly* zeigte, auch in ganz kurzdauernden Versuchen, richtige normale Quotienten gegeben hat.

Einige Nachteile der Methode werden von *Benedict* selbst erörtert. Gegenüber der *Zuntz*schen Methode fällt bei dem zuerst beschriebenen Modell wohl am schwerwiegendsten ins Gewicht, daß die Größe des Atemvolumens nicht gemessen werden kann, so daß bei kurzdauernden Versuchen die Kontrolle fehlt, ob Änderungen des RQ., z. B. durch Änderungen der Atemmechanik bedingt sind, ein Faktor, der für Versuche beim kranken Menschen sich eventuell sehr störend geltend machen könnte.

Bei der jüngst mitgeteilten Beschreibung der neuen Form des Apparates ist der Druckausgleicher durch ein Spirometer ersetzt und so die Möglichkeit gegeben, das Atemvolumen genau zu registrieren.

Ein weiterer Nachteil gegenüber der *Zuntz-Geppert*schen Methodik besteht darin, daß er nicht in eine leicht transportable Form gebracht werden kann, so daß sein Anwendungsbereich dadurch etwas beschränkt wird. Da die *Benedict*sche Methode ebensowenig wie die *Zuntz-Geppert*sche auf die Anbringung eines Verbindungsstückes mit dem Gesicht (Nase-

[1]) Deutsches Arch. f. klin. Medizin. Bd. 107. S. 593 ff. (1912).

stück) verzichtet, ist dadurch eine gewisse Behinderung der Atmung stets gegeben, die vielleicht bei Schwerkranken, besonders Herz- und Lungenkranken, hin und wieder wohl Schwierigkeiten machen könnte.

Rolly fand, daß ein luftdichter Abschluß der Nasenstücke in den Nasenlöchern unangenehme Reizzustände hervorruft und daß es in vielen Fällen überhaupt nicht gelingt, einen luftdichten Abschluß zu erzielen.

Die Vor- und Nachteile der *Rolly*schen Modifikation des *Benedict*schen Apparates.

Er hat natürlich alle Vor- und Nachteile des *Benedict*schen Prinzips im allgemeinen.

Da das Volumen des Apparates stets mit bekannt ist, und ferner vor und nach jedem Versuch eine gasanalytische Bestimmung der Luftzusammensetzung im Apparat vorgenommen wird und Temperatur- und Druckschwankungen mitregistriert und in Rechnung gestellt werden, sind die Resultate mit dem *Rolly*schen Apparate theoretisch wohl genauer wie bei der *Benedict*schen Originalmethode.

Auf der anderen Seite ist zu bedenken, daß die Verfeinerung der Methode nur durch eine außerordentlich große Komplikation der Methodik und Berechnung gewonnen wird, so daß es sich fragt, ob die Verfeinerung so wesentlich und wertvoll ist, daß man die viel größere Umständlichkeit, insbesondere verglichen mit der *Zuntz-Geppert*schen Methode, mit in Kauf nimmt. Unseres Erachtens haben die Kontrollbestimmungen mit *Benedicts* Apparat dessen hervorragende Genauigkeit erwiesen, und die Steigerung der Leistungsfähigkeit ist etwas teuer erkauft. Ich fürchte, daß die praktische Anwendbarkeit des Verfahrens durch die Einführung der Gasanalyse, die eine große Vermehrung der Arbeit und der technischen Einschulung erfordert, erheblich beeinträchtigt wird.

Rolly gibt selbst an, daß selbst für den geübten Untersucher die exakte Ausführung eines einzigen $^1/_2$stündigen Versuches mit Berechnung oder diejenige von drei verschiedenen ohne Berechnungen durchschnittlich 4 Stunden Zeit kostet.

Besonders in Anbetracht des oft etwas beschränkten Wertes eines derartigen kurzdauernden Versuches und der Tatsache, daß es sich für die Frage der Gesamtwärmeproduktion niemals um ganz exakte, sondern um orientierende Werte handeln kann, ist der Arbeitsaufwand ein ungewöhnlich großer.

Ein Vorteil der *Rolly*schen Modifikation besteht darin, daß durch einfache Einschaltung einer großen Kammer ohne weitere Änderungen auch langdauernde Versuche möglich sind (vgl. S. 521).

Bezüglich der Anwendung der Gesichtsmaske gilt das Gleiche wie für die *Benedict*schen Nasenoliven, sie stellt eine Behinderung der normalen Atmung dar und ist darum bei Schwerkranken und vor allem Dyspnoischen wohl nicht ganz gleichgültig für die Exaktheit der Versuche, zumal wenn eben die Kontrolle des Atemvolumens fehlt. Bei Nor-

malen und Leichtkranken dürfte allerdings wohl kaum ein Fehler entstehen können. Ferner erscheint es etwas fraglich, ob sich ohne Schwierigkeiten in jedem Falle ein vollkommen luftdichter Abschluß mit der Gesichtsmaske erzielen läßt.

Der Kopfrespirationsapparat von Grafe[1]
(nach dem *Jaquet*schen Prinzipe konstruiert).

Prinzip: Die Versuchsperson liegt in bequemer Rückenlage auf einem gut verstellbaren Versuchsbett, dessen Kopfteil einen kleinen Blechkasten trägt. Durch einen Halsausschnitt wird der zu untersuchende Mensch mit seinem Kopf auf ein mit Gummi oder Wachstuch überzogenes Kopfkissen im Inneren des Kastens geschoben. Durch Gummiringe und Binden wird ein luftdichter Verschluß am Hals und am Kasten hergestellt. Die Atmung durch Nase und Mund ist so vollkommen ungehindert. Durch eine *Elster*sche Gasuhr wird der Kasten mit der Luft eines energisch ventilierten Zimmers ventiliert und nach dem *Jaquet*schen Prinzip über Quecksilber ein Teilstrom abgesaugt, dessen Zusammensetzung durch einen äußerst genauen, etwas modifizierten Gasanalyseapparat nach *Palmqvist-Petterson* genau analysiert wird. Da die Menge der passierenden Luft an der Gasuhr ablesbar ist, Temperatur und Barometer fortlaufend registriert werden, macht die Berechnung des verbrauchten Sauerstoffes und der gebildeten Kohlensäure keinerlei Schwierigkeit.

Beschreibung der Apparatur und der Versuchstechnik.

Da bei der Konstruktion des Apparates in erster Linie an die Untersuchung schwer dyspnoischer Kranker gedacht worden war, wurde ein Versuchsbett (vgl. das Übersichtsbild Fig. 72 *[B]*) konstruiert, das durch zweckmäßige Verstellung (Kurbeldrehung) der einzelnen Teile gegeneinander eine Untersuchung in jeder Stellung zwischen aufrechtem Sitzen und flachem Liegen gestattete (vgl. Fig. 72[2]). Die Maße des ausgestreckten Bettes[3]) waren 2·25 *m* Länge, 75 *cm* Breite, 65 *cm* Höhe. Den Kopfkissenteil des Bettes nahm ein Blechkasten aus bestem Messingblech ein, von 90 *cm* Höhe, 80 *cm* Breite und 70 *cm* Tiefe. In alle Wände, abgesehen von der Unterfläche und der Rückwand, waren große Fensterscheiben eingesetzt, deren vollkommen luftdichter Verschluß natürlich ebenso geprüft werden mußte wie der der Lötstellen des Kastens. Die Vorderwand des Kastens sprang entsprechend der Schulterwölbung in Form eines Zylinderviertels ein.

In der Mitte dieses nach außen konkaven Raumes befindet sich zum Durchtritt des Kopfes ein runder Ausschnitt, dessen Ränder nach außen

[1]) Deutsches Archiv f. klin. Medizin. Bd. 95. S. 529 (1909).

[2]) Die photographische Aufnahme des von der Gasuhr getrennten Versuchsbettes verdanke ich der großen Liebenswürdigkeit von Herrn Professor *F. Benedict*, Boston.

[3]) Die Firma *C. Maquet*, Heidelberg, fertigt derartige Betten zum Preise von ca. 150 M. an.

umgebogen waren (vgl. Fig. 72). Die Abdichtung des Innenraumes geschieht in der Weise, daß die Kranken einen Gummihalskragen über den Kopf gezogen bekommen. Der eine Teil ist der Form des Halses angepaßt, der andere der Ausschnittöffnung des Kastens. Am Rande des zur Abdichtung am Kasten bestimmten Teils ist ein Gummischlauch angesetzt, der aufgepumpt genau in die Umwallung am Ausschnitt des Kastens sich einfügen läßt. Durch 4 Klammern wird dann noch der Schlauch in der Rinne festgehalten. Zur Abdichtung muß der Gummi jedesmal befeuchtet werden, er klebt dann an der Kastenwand wie am Halse sehr gut fest. Um ganz sicher zu gehen, daß am Halse neben dem Kragen keine Luft mehr vorbeigeht, schließt man ihr unteres Ende mit mehreren Touren einer ganz dünnen feuchten Gummibinde ab. Auf diese Weise ist ein luftdichter Abschluß garantiert. Da feuchter Gummi ausgezeichnet an der Haut klebt und der geringe negative Druck im Kasten dies nur befördert, kann man die Bindetouren ziemlich lose anlegen, so daß keinerlei Druck auf die Trachea oder sonst eine Behinderung der Atmung entsteht. Der Kopf der Versuchsperson ruht auf einem gepolsterten, mit dickem Gummi überzogenen Kissen, das auf einer keilförmigen Unterlage von Blech aufliegt.

Fig. 72.



Gesamtansicht des Kopfrespirationsapparates von *Grafe*. *B* Versuchsbett, das aus drei Teilen besteht, die durch besondere Kurbelvorrichtungen in jede beliebige Lage zueinander gebracht werden können. *K* Kopfkasten mit Halsausschnitt, an dem die Gummihalskrawatte des Kranken befestigt wird, und Scheibe *E* Stelle für den Eintritt der Luft. *R* biegsames Metallrohr zur Verbindung mit der Gasuhr (nicht mit abgebildet).

Die Ventilation des Respirationskastens, dessen Temperatur und Feuchtigkeitsgehalt durch Thermometer und Hygrometer fortlaufend gemessen werden können, besorgt eine mittelgroße *Elster*sche Gasuhr, die durch einen Elektromotor getrieben wird. Am besten wird ein ganz gleichmäßiger Gang des Motors und dem entsprechend ein ganz gleichmäßiger Gang der Gasuhr erzielt durch Anbringung eines sogenannten Nebenschlußmotors. Durch Einschaltung geeigneter Widerstände oder verschieden großer Zahnräder, die in Zahnräder, welche auf der Achse der Gasuhr aufsitzen, eingreifen, läßt sich die Ventilationsgröße in jeder wünschenswerten Form abstufen. Meist genügt es, sofern nicht starke körperliche Arbeit geleistet wird, die Ventilationsgröße mit 30 *l* pro Minute anzusetzen. Zur

Ventilation des Kastens kann man die Luft des Zimmers benutzen, sofern dies nicht groß ist und während und vor dem Versuch durch einen starken elektrischen Wandventilator stark ventiliert wird. Zahlreiche Luftanalysen ergaben, daß die Luft eines derartigen Zimmers, das selbstverständlich keine Kohlensäurequelle (wie Gasflamme etc.) enthalten darf, vollkommen die gleiche Zusammensetzung hat wie die atmosphärische Luft. Das Verfahren besitzt große Vorteile gegenüber der Benutzung von Außenluft. So verlieren z. B. kleinste Undichtigkeiten des Apparates etwa an der Halsabdichtung an Bedeutung, weil der ganze Apparat von einer Luftatmosphäre umgeben ist mit gleicher Zusammensetzung wie die dem Kranken zugeleitete Inspirationsluft. Um möglichst rasch die der Ausströmöffnung entströmende kohlensäurehaltige Luft zu eliminieren, schraubt man am zweckmäßigsten an dieser Stelle ein hohes Schornsteinrohr an, dessen etwas umgebogenes Ende direkt dem großen Wandventilator zugekehrt ist, so daß die Luft sofort abgeleitet wird.

Die Luft wird am zweckmäßigsten durch ein 3—5 *cm* weites Blechrohr in der Nähe des mit Ventilationsklappen versehenen Fensters abgesogen, tritt an der Vorderwand seitlich in den Kasten ein (bei *E*) und verläßt diesen an der Rückwand oben, nachdem sie im Kasten selbst mehrere Kammern passiert hat, was zum Zwecke einer gleichmäßigen Luftmischung wünschenswert ist. Die Verbindungen des Kastens mit dem Luftzuleitungsrohr und der Gasuhr bestehen aus einem biegsamen Blechrohre *(R)*, bei dem engere und weitere Abschnitte ähnlich wie bei einem Gaszuleitungsrohr miteinander abwechseln. So ist eine weite Verstellbarkeit des Kastens je nach der Versuchsanordnung und der Lage des Kranken ermöglicht.

Die Absaugung eines Teilstromes der Luft kurz vor ihrem Eintritt in den Kasten geschieht nach dem Prinzipe von *Jaquet*. Da die Methodik später bei der Besprechung der *Jaquet*schen Originalmethode und seiner Verbesserungen noch eingehend besprochen wird, verweisen wir hier nur auf die dortigen Ausführungen (S. 498), auch über die Methode der zweckmäßigsten Gasanalyse finden sich dort alle nötigen Detailangaben.

Die Durchführung eines Versuches gestaltet sich folgendermaßen:

Die Versuchsperson wird erst (12. bis 13. Stunde nach der letzten Mahlzeit) auf das Versuchsbett gelagert, nachdem sie vorher den Gummihalskragen über den Kopf gestülpt bekommen hat. Durch Anlegung einer feuchten ca. 8 *cm* breiten Gummibinde, die nur ganz leicht angezogen werden darf, wird ein luftdichter Abschluß erzielt. Während der Vorbereitungen, bzw. mindestens 20 bis 30 Minuten vor Beginn des eigentlichen Versuches, wird der große Zimmerventilator und der Motor der Gasuhr in Tätigkeit gesetzt. Die Ventilationsgröße kann, ehe die Versuchsperson in den Apparat kommt, 100—120 *pro* 1′ betragen, nachher ist sie zweckmäßig auf 30 *l* zu ermäßigen.

Die Versuchsperson wird dann mit Kopf und Hals in den Kasten hineingeschoben. Der Kasten und die einzelnen Teile des Bettes werden

dann so gestellt, daß der Mensch ganz bequem entspannt liegt, bzw. halb sitzt.

Der mit einem Gummischlauch versehene Rand des Gummikragens wird etwas angefeuchtet und über den etwas vorstehenden und nach außen umgebogenen Rand des Halsausschnittes gestülpt, der Gummischlauch mit einer Radfahrtaschenpumpe etwas aufgepumpt, so daß er überall in breiter Ausdehnung dem Rande anliegt, und schließlich noch durch ein paar Klemmen festgedrückt. Dadurch, daß der Gummikragen in seinem Halsteil ziemlich lang ist, gestattet er ohne eine Gefährdung des luftdichten Abschlusses eine weitgehende Beweglichkeit von Kopf und Hals.

Nachdem die Gasuhr dann ca. 20—30 Minuten ganz gleichmäßig ging, ist in dem kleinen Raum eine Konstanz des Kohlensäure- und Sauerstoffgehaltes eingetreten, die Versuchsperson hat sich an die neue Situation vollkommen gewöhnt und atmet unbehindert in ruhiger Rückenlage in den Kasten hinein. Der eigentliche Versuch, d. h. die Absaugung eines Teilstroms, kann dann beginnen.

Die Versuchsdauer kann je nach dem Zwecke, den der Untersucher verfolgt, von $^1/_2$—3 Stunden ausgedehnt werden. Mehrstündige[1]) Versuche machen wegen des Fehlens von Nasenoliven, Mundstücken oder Gesichtsmasken selbst ganz Schwerkranken, wie z. B. Pneumonikern, Emphysematikern, keine Beschwerden. Bezüglich des Verhaltens der Versuchsperson während des Versuches, der Kontrollen von Muskelbewegungen, Puls und Atmung gelten natürlich alle schon oben erwähnten Angaben für exakte Grundumsatzversuche. Bei Abstellung des Versuches werden Zeit, Gasuhr, Thermometer und Barometer abgelesen und der Motor abgestellt. Durch Öffnen des Ventils am Schlauche, der sich am Rande des Gummikragens befindet, wird dieser vom Apparat abgenommen und dann durch Lösen der Bindentouren auch am Halse entfernt.

Auch für Arbeitsversuche ist der Apparat sehr geeignet, da das Bett in eine dazu bequeme Stellung gebracht wird und die Versuchsperson z. B. das Rad am *Zuntz*schen Bremsergometer drehen kann.

Eine Analyse der Kastenluft zu Anfang und zu Ende des Versuches ist bei Nüchternversuchen (Grundumsatzversuchen) nicht nötig, da schon nach 20 Minuten bei langsamen gleichmäßigen Gang der Gasuhr infolge des kleinen Volumens der Kammer die Zusammensetzung der Luft konstant geworden ist und es in derartigen, exakt durchgeführten Versuchen auch bis zu Ende bleibt.

Anders liegen die Verhältnisse bei Arbeitsversuchen. Hier ist nach Beendigung der Arbeitsleistung mindestens $^1/_2$ Stunde nötig, bis nach Beendigung der Arbeit die Luft wieder die ursprüngliche Zusammensetzung erreicht hat. Will man sofort bei Beendigung der Arbeit den Versuch abbrechen, so ist eine Analyse der Kastenluft zu Anfang und zu Ende des Versuches vorzunehmen.

[1]) Das Maximum der Versuchsdauer ohne irgend eine Beeinträchtigung des Befindens dürfte allerdings wohl 3 Stunden betragen.

Die während des Versuches abgesogene Menge Luft wird nach Überfüllung in ein kleineres Glasgefäß in einer später noch genau zu besprechenden Weise analysiert. Da man auf diese Weise den Kohlensäure- und Sauerstoffgehalt einer Luftprobe genau ermitteln kann und die Gesamtmenge der Luft, welche während des Versuches durch die Gasuhr ging, sowie das Verhalten von Temperatur und Barometer während des Versuches bekannt sind, ist die Berechnung außerordentlich einfach.

Vor- und Nachteile des Apparates.

Die Hauptfehlerquellen des Apparates können durch Undichtigkeiten bedingt sein. Die Prüfung auf Luftdichtheit des Apparates ist eine außerordentlich einfache. Man braucht nur die Halsöffnung des Apparates mit einer luftdicht abschließenden Gummikappe, sowie das Blechrohr für die Luftzuleitung mit einem Gummistopfen zu verschließen und die Gasuhr ganz vorsichtig und langsam in Gang zu bringen, bis das Wassermanometer aus der Gasuhr einen negativen Druck von 10 *mm* Wasser anzeigt. Weiter kann man Druckabnahme nicht steigern, da sonst durch die Ausströmöffnung Luft in die Gasuhr zurückgezogen wird. Dies aber ist unter allen Umständen zu vermeiden, da sonst Wasser in die Luftkammern eindringt, was die sofortige Entleerung und Neufüllung der Gasuhr notwendig macht. Bleibt der geringe negative Druck 1 Stunde lang unverändert bestehen, so ist der Apparat praktisch luftdicht.

Da man so leicht jederzeit sich davon überzeugen kann, ob der Apparat luftdicht ist, kommt als einzige unvermeidliche Fehlerquelle nur der kleine Fehler, welche die Methode der Gasanalyse mit sich bringt, in Betracht. Dieser beträgt, wenn man darauf achtet, daß die Konzentration der Kohlensäure immer über 0·5% beträgt, im ungünstigsten Falle für die Kohlensäure 0·5—1·0, für den Sauerstoff maximal 1·5%.

Die Anwendung von Gummiteilen bedingt bei der geringen Kohlensäurespannung im Apparat keinen maßbaren Fehler, der Verlust an CO_2 pro Stunde beträgt nur einige 0·01 *cm*[1]), was gegenüber der Gesamtmenge von mehreren Litern überhaupt nicht in Betracht kommt.

Die Leistungsfähigkeit des Apparates läßt sich nur durch Verbrennung von absolutem Alkohol, der durch mehrfaches Schütteln mit Cupr. sulfur. siccum wasserfrei gemacht wird, prüfen. Er wird in eine offene Petrischale im Apparat rasch eingegossen und sofort elektrisch entzündet.

Durch derartige Versuche ergab sich, daß der mittlere Fehler aus 13 Versuchen für die Kohlensäure + 0·44%, für den Sauerstoff 1·16% betrug.[2])

Der Apparat steht in der Mitte zwischen den Methoden für ganz kurz dauernde und für sehr lang dauernde Versuche.

---

[1]) Berechnet auf Grund der Versuche von *Grumnach* (Versuche über die Diffusion von Kohlensäure durch Kautschuk. Physikal. Zeitschr. 6. Jahrg. Nr. 23. S. 795. 1905).

[2]) Da die Verbrennung des Alkohols eine sofortige war, sind die Kontrollverbrennungen unter ganz besonders ungünstigen Verhältnissen vorgenommen. Die maximalsten Fehler in einigen Kontrollverbrennungen betrug bis 3·0% für die Kohlensäure, einmal [illegible]

Sein Vorzug gegenüber den beiden zuerst beschriebenen Methoden besteht darin, daß jede Behinderung der Atmung fortfällt; weil das Gesicht ganz frei ist, so eignet er sich ganz besonders gut zur Untersuchung von schwer dyspnoischen Kranken.

Die oben schon skizzierten theoretischen Einwände, welche man gegen Teilstromapparate erhoben hat, gelten auch für diesen, sind aber praktisch auch in diesem Falle wegen der ganz gleichmäßigen Absaugung und Mischung der Luft wohl gegenstandslos.

Der Hauptnachteil, der sich besonders bei ganz kurz dauernden Versuchen geltend macht, besteht darin, daß das Atemvolumen nicht fortlaufend gemessen werden kann. Infolgedessen können zu tiefe oder zu hohe Werte des respiratorischen Quotienten, z. B. bei Herz- oder Lungenkranken, hin und wieder einmal durch Unregelmäßigkeiten der Atmung bedingt werden. Bei einer Versuchsdauer von weit über einer Stunde dürfte dieser Fehler allerdings kaum in Betracht kommen.

Das Anwendungsgebiet für kurzdauernde Versuche ist insofern etwas eingeschränkt, als die Mindestdauer exakter Versuche 1/2 Stunde beträgt, da sonst eventuell vorhandene Differenzen in der Zusammensetzung der Luft des Kastens am Anfang und am Ende des Versuches zu Fehlern Anlaß geben können. Es ist daher ratsam, in Fällen sehr kurzer Versuchsdauer stets eine Analyse der Kastenluft (so wie sie bei R [vgl. Fig. 72] die Kammer verläßt) zu Anfang und zu Ende des eigentlichen Versuchs vorzunehmen und das Volumen des Kastens mit in Rechnung zu stellen.

Im übrigen vgl. die Vor- und Nachteile des *Jaquet*schen Prinzips.

Die Methodik langdauernder Respirationsversuche.

Sobald es darauf ankommt, eine exakte Stoff- und Kraftwechselbilanz aufzustellen, genügen kurz dauernde Versuche nicht mehr. Für derartige Fragestellungen muß der respiratorische Gaswechsel während mindestens 6—24 Stunden fortlaufend untersucht werden, und es ist klar, daß dafür eine andere Apparatur notwendig ist, wie für kurzdauernde Versuche. Immerhin lassen sich gewisse Systeme (z. B. das *Jaquet*sche und *Benedict*sche) sowohl für kurze wie für langdauernde Versuche verwenden. Es kommt nur darauf an, je nach der Aufgabe, kleine Modifikationen anzubringen. So kann man z. B. bei dem *Jaquet*schen Prinzip statt des Kopfkastens eine große Respirationskammer oder einen Tierkasten einschalten oder bei Apparaten nach *Benedicts* Prinzip in den zirkulierenden Luftstrom statt der Nasen- und Mundstücke einen großen Rezipienten für einen ganzen Menschen oder ein Tier einfügen (vgl. z. B. *Rollys* neuesten Apparat S. 520).

Auch bei der Besprechung der folgenden Apparate sind nur solche herausgegriffen, die sich durch lang dauernden und vielseitigen Gebrauch auch für die Untersuchung Kranker bewährt haben und wegen verhältnismäßiger Einfachheit der Methodik und nicht zu großer Anschaffungs- und Betriebskosten sich auch für klinische Zwecke eignen.

Bezüglich der allgemeinen Gesichtspunkte für die Technik langdauernder Respirationsversuche und der Beschreibung anderer hier nicht geschilderter Apparate sei auf die Ausführungen von *Johansson* in Bd. III dieses Handbuches verwiesen.

Apparate nach dem Pettenkoferschen Prinzipe.

(Der Originalapparat von *Pettenkofer-Voit*[1], der Apparat von *Wolpert*[2], der Apparat von *Steyrer*.[3,4])

Prinzip der *Pettenkofer*schen Methodik:

Eine sehr geräumige Versuchskammer aus Eisenblech nimmt die Versuchsperson für viele Stunden auf. Sie atmet entweder die Luft des Zimmers, welche durch die kleinen Undichtigkeiten des Apparates dringt (wie im Originalapparat) oder Außenluft, welche durch eine besondere Rohrleitung zugeführt wird. Der Luftwechsel wird besorgt durch eine Saugpumpe, welche die Luft aus der Kammer ansaugt und einer großen Gasuhr zuführt, in der ihr Volumen genau gemessen werden kann.

Sowohl von der in den Apparat einströmenden, wie von der aus der Kammer ausströmenden Luft werden durch sehr dünne Rohrleitungen Teilströme entnommen, deren Absaugung genau synchron mit der des Hauptstromes durch eine Nebenleitung der Saugpumpe besorgt wird.

Die Luft in den Teilströmen passiert erst kleine Kölbchen mit in Schwefelsäure getränktem Bimsstein, deren Gewichtszunahme den Wassergehalt angibt. Durch eine besondere Vorrichtung wird dann die Luft durch lange, mit Barytlauge gefüllte Röhren langsam hindurchgedrückt und verläßt dann durch eine auf Druck eingerichtete kleine Gasuhr, in der das Volumen der Teilströme gemessen wird, die Leitung. Die Abnahme der Alkaleszenz der in den *Pettenkofer*schen Röhren befindlichen Barytlauge läßt sich titrimetrisch feststellen und ist das Maß für die Menge Kohlensäure, welche der einzelne Teilstrom mit sich geführt hat. Da in gleicher Weise der Kohlensäuregehalt der einströmenden Luft bestimmt wird und die Luftmenge, welche während des Versuchs die große und die kleinen Gasuhren passiert hat, durch Gasuhrablesungen zu Anfang und zu Ende des Versuches bekannt ist, läßt sich die im Versuch gebildete Menge Kohlensäure in einfachster Weise berechnen.

Beschreibung der Apparatur:

Da die Methodik mit Versuchen bis zur Dauer von 24 Stunden rechnet und auch für Arbeitsversuche ausreichen soll, ist das Volumen

[1] *M. Pettenkofer*, Über die Respiration. Annal. der Chem. u. Pharmaz. 2. Suppl. Bd. S. 1 u. f. (1862 u. ff.).

[2] *H. Wolpert*, Arch. f. Hygiene. Bd. 26. S. 32 u. ff. (1896).

[3] *Steyrer*, Zeitschr. f. experim. Pathologie u. Therapie. Bd. 4. S. 72[illegible]

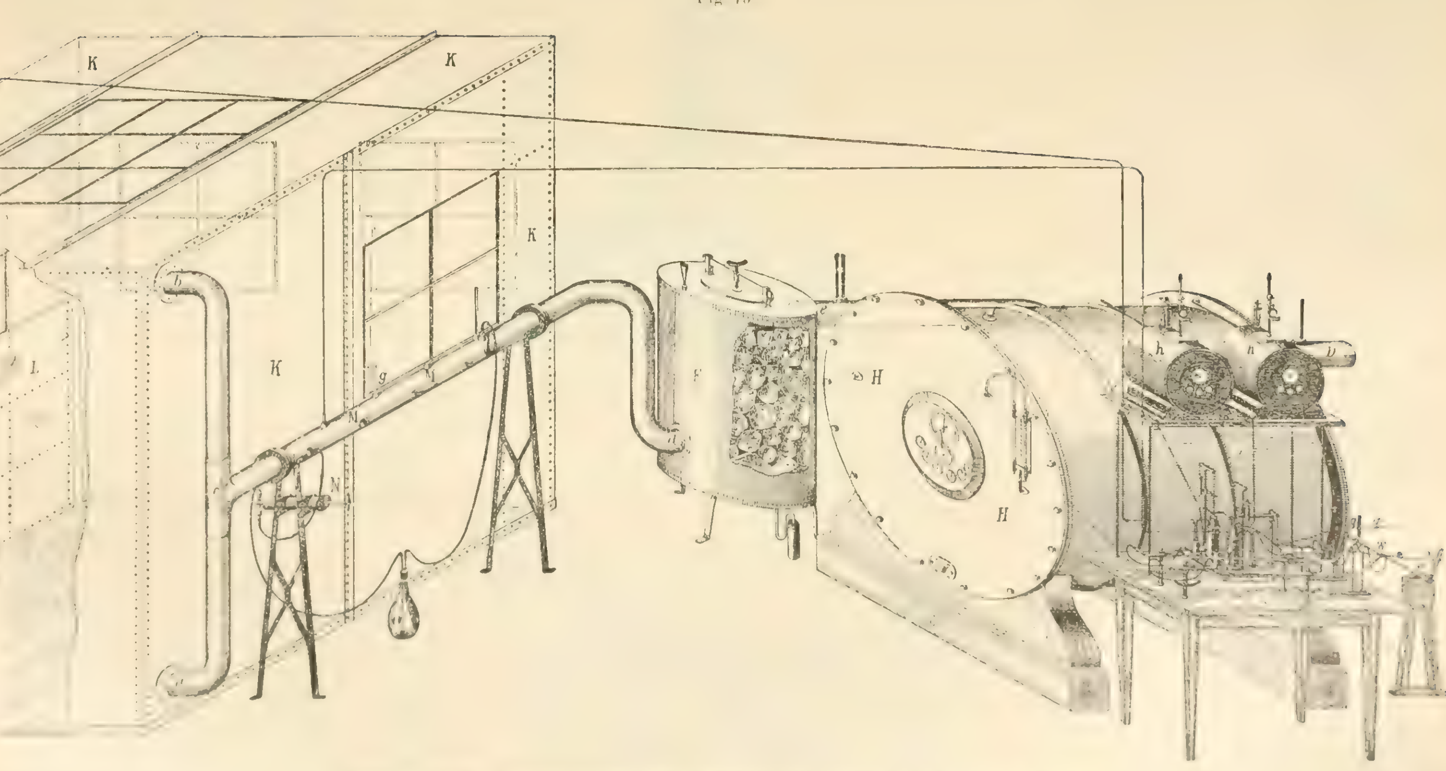
[4] Der nach dem *Pettenkofer*schen Prinzip gebaute Apparat im [illegible] Haus in Berlin für Säuglinge und Kinder ist an anderer Stelle von *Langstein* (Bd. 3. S. 1027)) beschrieben.

der Respirationskammer sehr groß genommen. Die größte Ausdehnung hat die *Pettenkofer*sche Originalkammer, sie hat die Form eines Würfels, dessen Seitenwände 2·335 *m* lang sind, der Rauminhalt beträgt daher 12·7 m^3, der *Rubner*sche Versuchsraum faßt nur 7·5 m^3 (Breite × Länge × Höhe = 1·5 × 2·5 × 2 *m*), die Kammer der 2. Medizin. Klinik der Charité, welche *Steyrer* beschrieben hat, 6·6 m^3 (Breite × Länge × × Höhe = 2·0 × 1·65 × 2·0). Das Material der Kasten besteht aus Eisenblech, das am zweckmäßigsten innen und außen mit Ölfarbe angestrichen wird. Auch für den Fußboden wird am besten Eisenblech genommen, da Holzboden hygroskopisch und Asphaltboden Kohlensäure entwickelt (Beobachtungen an der *Pettenkofer*schen Kammer). In die Seitenwände, eventuell auch in die Decke können Fensterscheiben eingesetzt werden. Abgesehen vom *Pettenkofer*schen Original-Apparat, in dem Zimmerluft eingesogen wurde, müssen alle anderen Apparate, die mit Außenluft gespeist werden, luftdicht sein. Darauf ist besonders beim Einsetzen der Fensterscheiben und beim Anziehen der Verschraubungen zu achten. Besonders die Abdichtung der Türe, die meist durch zahlreiche große Schrauben gegen die an den Seiten mit Gummi ausgelegte Türumrahmung gepreßt wird, macht hier oft sehr große Schwierigkeiten. Ein 12—15 *cm* weites Rohr aus Weißblech, das durch die Holzumrahmung eines Fensters ins Freie mündet, führt frische Luft zum Apparat, wo sie unten in eine Seitenwand eintritt. Da die Außenluft oft erhebliche Temperaturschwankungen im Laufe des Versuchs durchmacht und sehr oft auch stark mit der Temperatur des Versuchszimmers differiert, hat *Steyrer* sie durch zwei große Eisenblechschränke hindurch geleitet, in denen sich die Temperatur der Außenluft leichter mit der Umgebungstemperatur ausgleicht. Eventuell kann man auch Eis oder Trockenmittel hineinbringen oder die Schränke erwärmen, in ähnlicher Weise, wie *Atwater* es bei seinem Apparate getan hat. Auf diese Weise läßt sich auch der Feuchtigkeitsgehalt der Luft beeinflussen.

Die Ventilation der großen Respirationskammer wurde in dem ursprünglichen Apparate von *Pettenkofer* (siehe Fig. 73) durch eine große, mit Ventilen versehene Saugpumpe bewerkstelligt. Zum Antrieb diente eine Dampfmaschine.[1] Da diese Anlage sowie der Betrieb sehr kostspielig und kompliziert sind, hat *Rubner* an seinem Apparat die Dampfmaschine fortgelassen und die große Gasuhr, in der die Ventilationsgröße gemessen wird, direkt als Saugpumpe benutzt, indem er sie durch ein Pelotonrad in Bewegung setzte, das durch Wasserdruck getrieben wird. Der Pelotonmotor ist dadurch von einem gewöhnlichen Wasserrad unterschieden, daß die Schaufeln durch becherförmige Zellen ersetzt sind. So wird eine viel gleichmäßigere, ruhigere Übertragung der Wasserkraft auf die Achse des Rades gewährleistet, wie bei den gewöhnlichen Schaufelrädern. Durch Transmissionsriemen und Zahnräder wird in einer aus Fig. 74 ohne weiteres

[1] Da dieser komplizierte Antrieb jetzt ganz veraltet und nicht mehr zu empfehlen ist, erscheint die Angabe weiterer Einzelheiten hier überflüssig.

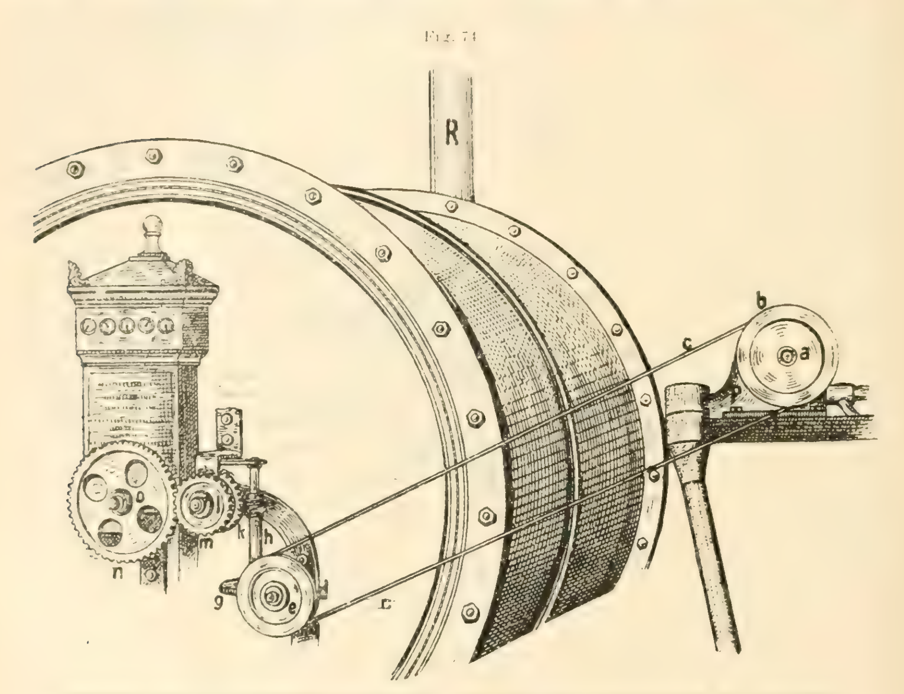
Fig. 73.



Gesamtansicht des *Pettenkofer*schen Respirationsapparates. (Zeichenerklärungen im Text.)

ersichtlichen Weise die Bewegung von der Achse *a* des durch den Motor *P* getriebenen Rades auf die Achse *o* der inneren Gasuhrtrommel übertragen. Durch Auswechseln der verschieden großen Zahnräder läßt sich der Gang der Gasuhr in weiten Grenzen regulieren. Für die Versuche empfiehlt es sich am meisten die Gasuhr für einen Stundendurchlaß von 30—40 cm^3 einzustellen. Später hat dann *Rubner* den Pelotonmotor durch einen elektrischen Motor ersetzt und in gleicher Weise ist auch *Steyrer* verfahren. Der Elektromotor ist zwar in der Anschaffung im allgemeinen etwas teurer, dagegen im Betrieb billiger wie Wasser und arbeitet, zumal wenn man einen Nebenstrommotor nimmt, sehr viel exakter und gleichmäßiger.

Fig. 74.



Übersicht über die Antriebsvorrichtungen für die Gasuhr und die Entnahme der Teilströme an dem *Rubner*schen Apparate. (Buchstabenerklärungen vgl. den Text.)

Fig. 73, welche eine Verkleinerung der Zeichnung des *Pettenkofer*schen Originalapparates darstellt, zeigt, daß die Luft, ehe sie in die Saugpumpe (deren Platz durch Unterbrechung des Rohres *d* angezeigt ist) an zwei Stellen der Kammer (also *a* und *b*) eintritt, noch durch einen Blechschrank *F* hindurchgehen muß. Dieser ist mit großen, groben Bimssteinstücken gefüllt, welche mit Wasser übergossen werden. Der Zweck der Vorrichtung ist, die aus der Kammer kommende Luft mit Wasserdampf zu sättigen, um zu verhindern, daß die Luft ihr Feuchtigkeitsdefizit erst in der Gasuhr deckt. Das hätte aber eine Abnahme des Wassers in der Gasuhr und dadurch bedingt eine Ungenauigkeit der Messung zur Folge. *Rubner* hat diese Schwierigkeit in einfacher Weise dadurch umgangen,

daß er auf den Anfeuchtungsapparat verzichtete und die Gasuhr mit Zu und Ablauf einrichtete. Bei einem langsamen Wasserstrom muß das Flüssigkeitsniveau in der Gasuhr ganz konstant bleiben.

Nach der Passage durch den Anfeuchter *F* gelangt die Luft durch die Rohrleitung *e—f* in die große Gasuhr und verläßt sie bei *h*. *Pettenkofer* benutzte eine Gasuhr von *Riedinger*-Augsburg, die zweckmäßigsten und besten Konstruktionen werden zurzeit wohl von *Elster*-Berlin in den Handel gebracht; von dieser Firma sind auch die Gasuhren von *Rubner* und *Steyrer* bezogen. An einem an der Vorderwand der Gasuhr angebrachten Zeigerwerk läßt sich direkt die Menge der während des Versuches zur Ventilation benutzten Luft ablesen. Bezüglich der näheren Konstruktion und Behandlung der Gasuhren sei auf Anhang I verwiesen.

Durch zwei dünne Rohrleitungen (Nr. 1 und Nr. 2) wird eine Teilprobe der die Kammer umgebenden Luft sowie der ausströmenden Luft entnommen und den Apparaten für die Bestimmung von Wasserdampf und Kohlensäure zugeführt. Um Doppelanalysen zu ermöglichen, was im Interesse der Genauigkeit der Resultate dringend empfehlenswert ist, soll man die Teilstromentnahmevorrichtungen stets doppelt anlegen.[1]

Die Entnahme der Teilströme geschieht nach *Pettenkofer* in einer sehr sinnreichen Weise, die am besten durch Fig. 75 illustriert wird. Zwei kleine Saug- und Druckpumpen *a* und *b* sind durch die Verbindungsstange *x—x* mit dem großen durch die Dampfmaschine getriebenen Saugapparat verbunden. Benutzt man mit *Rubner* zweckmäßiger die große Gasuhr als Saugvorrichtung, so verbindet man am besten die Welle des die Gasuhr treibenden Motors auch mit der Welle des Quecksilbergangwerkes, was durch Zahnradübertragung bzw. Cardangelenke sehr leicht möglich ist.

Da die ursprüngliche Anordnung an dem *Pettenkofer*schen Originalapparat heute wohl nur noch historischen Wert besitzt, sei die Übertragungseinrichtung von *Rubners* Apparat, wie *Wolpert*[2]) sie beschreibt, hier in den wichtigsten Punkten mitgeteilt:

„Von der Welle *a* des Peltonrades geht eine zweite Übersetzung aus. Hinten außen auf der Motorwelle sitzt nochmals eine metallene Riemscheibe, aber kleiner, von nur etwa 3 *cm* Durchmesser, ihre Umdrehungen werden durch Riemen auf eine ungleich größere, hölzerne, stufenförmige Riemscheibe übertragen, deren (gewöhnlich benutzter) Maximaldurchmesser etwa 30 *cm* beträgt und auf deren Welle am anderen Ende eine ganz kleine, zweite, metallene Riemscheibe von nur etwa 2 *cm* Durchmesser aufsitzt. Letztere steht ihrerseits wieder in Riemenverbindung mit einer sehr großen, zweiten hölzernen, stufenförmigen Riemscheibe, deren Maximaldurchmesser von etwa 35 *cm* gewöhnlich benutzt wird; sie ist auf dem Pump-

---

[1]) Da sich die folgende Beschreibung an die *Pettenkofer*sche Zeichnung anlehnt, in der die Anlagen nur einfach abgebildet sind, wird nur von je einem Teilstromentnahmeapparat die Rede sein.

[2]) l. c. S. 39.

werktisch montiert. Mit der Welle dieser letzteren Riemscheibe ist eine schmale Schlitzplatte gekuppelt, zur Aufnahme eines durch Verschraubung verstellbaren Bolzens. An dem Bolzen greift die Öse der Pumpentransmissionsstange an, welche folglich bei Drehung der Scheibe vor- und rückwärts geschoben wird: die nahezu horizontalen Exkursionen der Stange werden durch Winkelhebelverbindungen in vertikale umgesetzt, welche das Pumpwerk in Gang halten."

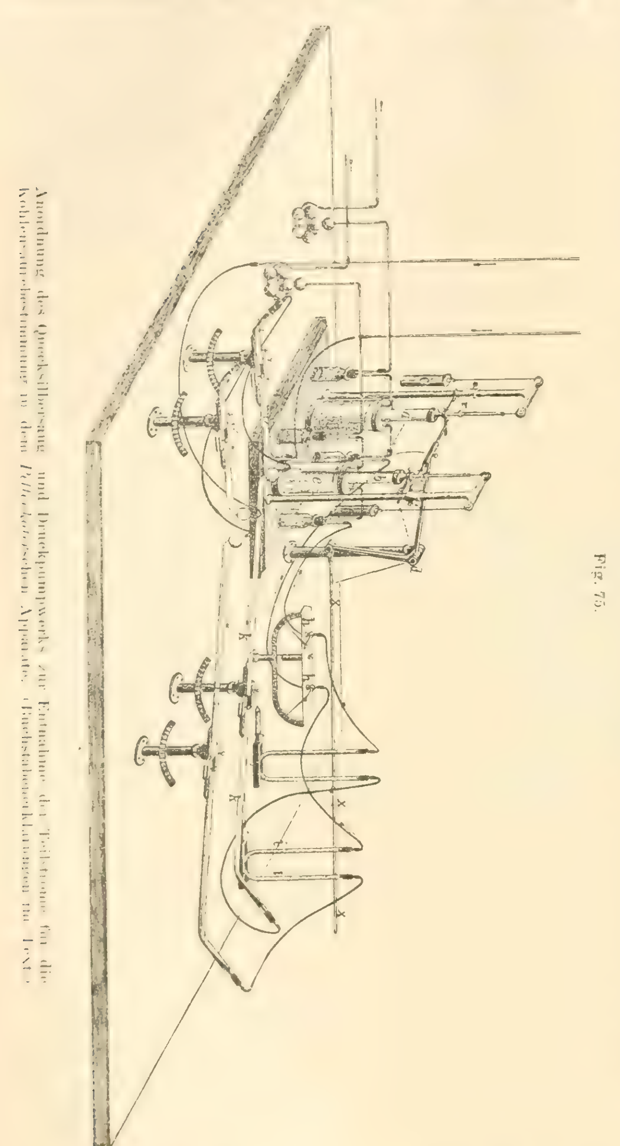


Fig. 75.

Anordnung des Quecksilbersaug- und Druckpumpwerks zur Entnahme der Teilströme für die Kohlensäurebestimmung in dem *Pettenkofer*schen Apparate. (Buchstabenerklärungen im Text.)

Durch eine derartige Übertragung der motorischen Kraft auf das Quecksilberpumpwerk ist garantiert, daß in jedem kleinsten Zeitabschnitt stets der gleiche aliquote Teil der Luftmenge, welche durch die große Gasuhr gesogen wird, in die Teilstromleitungen eintritt. Geht die Gasuhr einmal etwas langsamer, so wird in dem gleichen Maße auch der Teilstrom langsamer entnommen. Für die Exaktheit der Teilstromanalysenresultate ist das Gleichbleiben des Verhältnisses zwischen Größe des Hauptstromes und Größe des Teilstromes (gewöhnlich 2—4000:1) unerläßliche Vorbedingung.

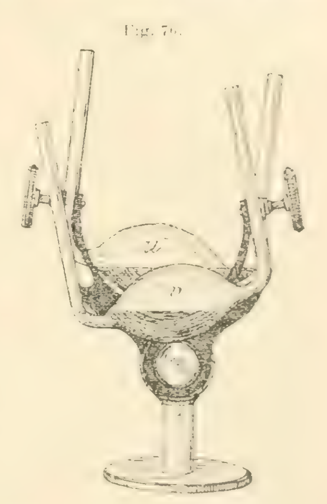
Der geschilderte Antrieb greift nun an einer Pumpvorrichtung an. Er hebt und senkt periodisch in langsamer Folge die beiden Glaszylinder *a* und *b* (Fig. 75), die in bis nahe zum Rande mit Quecksilber gefüllte Glasgefäße auf und nieder tauchen. In jedes führen zwei umgebogene Glasröhrchen (siehe bei *c* in der Fig. 75).

welche an dem anderen Ende in einem doppelt durchbohrten Gummistopfen stecken, der die Flaschen rechts und links von e verschließt.

In diese münden durch die zweite Bohrung die Teilstromleitungen. Die Anordnung bzw. ihre Länge der Röhrchen in den Flaschen, die auch eine kleine Menge Quecksilber enthalten, ist so getroffen, daß das Hochziehen der Glaszylinder *a* und *b* aus den vorgeschalteten Flaschen Luft aufsaugen muß, die aus der Teilstromleitung durch das Quecksilber hindurchgeht. Da in den Flaschen auf der anderen Seite der Pumpe das Glasrohr im Quecksilber endigt, wird hier keine Luft angesogen, es steigt nur die Quecksilbersäule beim Hochheben der Zylinder in den Röhrchen etwas an.

Werden dann kurz darauf die Zylinder niedergedrückt, so kann die über dem Quecksilber vorher abgesogene Luftmenge nur nach der Flasche hinter *e* ausweichen und wird so durch Druckwirkung den Rohren zur Absorption der Kohlensäure zugetrieben. Statt der ursprünglich von *Pettenkofer* verwandten *Müller*schen Ventile nimmt man besser die in Fig. 76 abgebildeten, im Prinzip ganz gleich funktionierenden *Voit*schen Ventile.

Fig. 76.



*Voit*sche Ventile.

So wirken in sehr ingeniöser Weise die Zylinder *a* und *b* zugleich nacheinander als Saug- und Druckpumpe. Die Übertragung der motorischen Kraft der Gasuhr wird so eingerichtet, daß die Pumpen in der Minute 10mal auf und nieder gehen. Die Zylinder werden so eingestellt, daß bei jedem Hub 8—9 cm^3 Luft angesogen und in der nächsten Phase weiter geschoben werden.

Nach der Passage durch das geschilderte Flaschensystem geht die Luft durch Gummischläuche zu den Hähnen *h*, deren Öffnung durch den über einer Skala spielenden Zeigerhahn sich sehr fein regulieren läßt, und dann weiter in die U-Rohre *i*. Diese sind mit Bimssteinstückchen, welche mit Schwefelsäure benetzt sind, gefüllt und dienen zur Bestimmung des Wasserdampfes. Hinter den U-Rohren kommt dann die Luft in die ca. 1 *m* langen *Pettenkofer*schen Röhren zur Bindung der Kohlensäure. Die Form und Anordnung der Röhren *(k)* ist genau aus der Fig. 75 zu ersehen. Die beiden Röhren liegen in Messinghaltern, die mit Gummi und Kork gefüttert sind, und sind in diesem verstellbar. Sie müssen während des Versuches so eingestellt sein, daß die Luft in kleinen einzelnen Blasen langsam an der Oberfläche der Barytlösung, mit welcher die Röhren gefüllt sind, durch das Rohr hindurchgeht.

Für den Fall, daß nicht alle Kohlensäure quantitativ in den langen Röhren *k* vom Baryt aufgenommen ist, wird noch eine zweite etwas kürzere Röhre der gleichen Art *(l)* eingeschaltet.

Hat die Luft auch diese durchperlt, so tritt sie durch die kurze Blechrohrleitung in die kleinen Gasuhren (*h*, Fig. 75). Diese sind auf Druck eingerichtet. Die treibende Kraft ist auch hier noch der Druck der Quecksilberpumpe *a*—*b*. An ihren Zifferblättern läßt sich die Größe des Teilstroms in jedem Versuche ablesen.

Beschreibung eines Versuches.

Vor Beginn einer größeren Versuchsreihe ist es notwendig, sich von der Dichtigkeit des Apparates zu überzeugen. Nach *Pettenkofer* kann man diese Prüfung durch Einleiten von Leuchtgas vornehmen. Da es bei der ursprünglichen *Pettenkofer*schen Kammer nicht auf Luftdichtigkeit ankommt, ist dort nur die Rohrleitung zu prüfen. Dies geschieht in der Weise, daß man die Rohre *a* und *b* (Fig. 73) bei ihrem Ansatz an der Kammer durch große Gummistopfen oder durch Glasscheiben mit Klebwachs luftdicht verschließt und dann in die Rohrleitung Leuchtgas einleitet, das durch die Saugpumpe bzw. die Gasuhr angesogen wird und durch letztere auch wieder ausströmt.

Nachdem man sich davon überzeugt hat, daß aus der Rohrleitung die Luft so weit ausgetrieben ist, daß eine Explosion nicht mehr möglich ist, wird mit einer kleinen Flamme die ganze Rohrleitung abgesucht, jede Undichtigkeit verrät sich sofort durch Entzündung des ausströmenden Gases. In gleicher Weise kann man auch den ganzen Apparat mit Kammer prüfen, indem man die Zuströmöffnung am Fensterrahmen verschließt. Die großen Mengen Gas, die dazu nötig sind, bringen aber Übelstände mit sich.

Eventuell könnte man auch hier zur Prüfung der Luftdichtigkeit die Gasuhr benutzen in analoger Weise, wie sie oben beschrieben wurde (vgl. S. 481). Sehr einfach ist die Prüfung der Teilstromabsaugevorrichtung.

Man braucht nur die Öffnungen der kleinen Rohre für die Teilströme zu verschließen und die Glaszylinder *a* und *b* (Fig. 75) aus dem Quecksilber etwas hoch zu ziehen, so daß ihr Unterrand noch eintaucht. Ist die Leitung dicht, so entsteht ein negativer Druck, der sich in einem Hochsteigen des Quecksilbers in den langen Röhren der Flaschen *g* verrät. Bleibt bei festgestelltem Zylinder *a* und *b* die Steighöhe des Quecksilbers während einer Stunde die gleiche, so hat man volle Garantie, daß die Leitung bis zur Quecksilberpumpe ganz dicht ist. In ganz analoger Weise läßt sich auch der weitere Abschnitt der Teilstromleitung auf seine Druckdichtigkeit bis zur Gasuhr prüfen. Dabei empfiehlt es sich aber, nicht die Gasuhr an der Austrittsstelle der Luft abzudichten, sondern nur die Rohrleitung vor dem Eintritt in die Gasuhr.

Nachdem man sich durch derartige, von Zeit zu Zeit notwendige Prüfungen von der Luftdichtigkeit der Apparatur überzeugt hat, wird ca. 1/2 Stunde vor Beginn des Versuches die große Gasuhr zur Ventilation angestellt. Gleichzeitig werden die *Pettenkofer*schen Röhren mit Baryt gefüllt.

Pettenkofer empfiehlt für die langen Röhren eine Barytlösung 21:1000 (kristallisiertes, chemisch reines Barymhydrat[1]), für die kleineren eine schwächere Konzentration 7:1000. Von der ersteren Lösung entsprechen 30 *cm*³ etwa 90 *mg* CO_2, von der letzteren 30 *cm*³ 30 *mg*.

Da die Barytlösung sich durch Aufnahme von Kohlensäure und die Bildung von $BaCO_3$ in ihrem Titer außerordentlich leicht ändert, darf sie nie offen an der Luft stehen. Am besten wird sie in großen Flaschen aufbewahrt und mit einer genau geaichten Saugpipette aus einem Heberrohr, das an seinem oberen Ende mit einem Gummischlauch und Einsetzhahn armiert ist, jedesmal angesaugt. Zum Luftabschluß dient ein gebogenes Aufsatzrohr mit Bimssteinstückchen, die mit konzentrierter Schwefelsäure benetzt sind oder ein solches mit locker gefülltem Natronkalk. Aber auch so gelingt es nicht lange, den Titer ganz konstant zu halten, und es ist deshalb nötig, vor jedem Versuch, d. h. kurz vor oder nach Einfüllen der Barytlösung in die Röhren, den Titer jedesmal gegen eine verdünnte Oxalsäure einzustellen. Diese enthält 2·8636 *g* reine kristallinische, nicht verwitterte Oxalsäure im Liter und ist sehr lange unverändert haltbar. 1 *cm*³ dieser Lösung entspricht genau 1 *mg* CO_2.

Als Indikator empfiehlt *Pettenkofer* Curcumapapier, zweckmäßiger ist es wohl, wie *Rubner* es angibt, Phenolphtalein zu nehmen, das einen sehr viel feineren und schärferen Umschlag gibt, und von einer ganz verdünnten alkoholischen Lösung 1—2 Tropfen zuzusetzen.

Zu 30 *cm*³ der Barytlösung wird dann die Oxalsäurelösung so lange zugesetzt, bis die vorher durch Phenolphtalein rot gefärbte Flüssigkeit gerade eben farblos ist. Da die Barytlösung rasch Kohlensäure aus der Luft aufnimmt und dadurch der Titer etwas abnehmen kann, empfiehlt es sich, sehr rasch zu titrieren und die Oxalsäurebürette an dem Ausflußrohr mit einem doppelt durchbohrten Gummistopfen zu versehen, der gerade auf das Kölbchen mit der Barytlösung paßt. So wird die Berührung mit der Luft auf ein Minimum beschränkt. Die Titrationen sind stets in einer Luft und in Gefäßen auszuführen, die kein Alkali enthält, es genügt z. B. schon das kohlensaure Ammoniak des Tabakrauches, um die Genauigkeit der Titration zu beeinträchtigen.

In die langen Röhren kommen von der Barytlösung je 135 *cm*³, in die kurzen 90 *cm*³. Es muß stets noch mindestens 10 *cm*³ Luft als Steigraum für die durchgehende Luft vorhanden sein.

Die Rohre werden nahezu horizontal aufgestellt, eventuell wird das nach der Gasuhr zugekehrte Ende etwas erhöht. Die Gummistopfen mit den Zuleitungsröhren werden luftdicht aufgesetzt und auch sonst alle Schlauchverbindungen gedichtet.

Will man mit der Kohlensäurebestimmung eine solche des Wasserdampfes kombinieren, so muß man, wie oben erwähnt, entweder vor [illegible]

---

[1]) Vor allem ist jede Verunreinigung mit Ätzkali oder Ätznatron zu vermeiden, da eine exakte Titration der Barytlauge dann nicht möglich ist (vgl. *Pettenkofer* l. c. S. 31).

hinter das Quecksilberpumpwerk kleine Kölbchen mit Bimsstein einfügen. Am besten nimmt man dazu kleine Glaskölbchen. Sie fassen ca. 100 bis 200 *cm*³. Durch den eingeschliffenen Glasstopfen führen 2 Glasröhrchen in die Kölbchen hinein, ein längeres, das einige Millimeter über dem Boden endigt, und ein kürzeres, das nur eben eintaucht, eventuell kann man auch den Glasstopfen an der einen Seite oder oben in Form eines Glasröhrchens ausziehen. Die Kölbchen werden mit erbsen- bis haselnußgroßen Stücken ganz reinen Bimssteins gefüllt, die vorher ausgeglüht und dann noch heiß in konzentrierte Schwefelsäure geworfen waren. Beim Füllen ist zu vermeiden, daß größere Mengen Schwefelsäure mit hineinkommen. Die Schwefelsäure darf den Boden und die Bimssteinstücke nur netzen. Insbesondere ist darauf zu achten, daß die Öffnungen der Röhrchen nicht durch Bimsstein oder Schwefelsäure verlegt werden. Die Füllung muß nach jedem 3.—5. Versuch wiederholt werden, um eine exakte quantitative Wasserdampfbestimmung zu ermöglichen. Die Kölbchen werden an den Außenenden der Glasröhrchen jederseits mit einem kurzen Stück Gummischlauch und einer leichten Klemme versehen, die kurz vor dem Wiegen geschlossen werden muß, um ein Eintreten von Wasserdampf in die Kölbchen zu verhindern. Ehe sie in die Teilstromleitungen eingefügt werden, müssen sie bis auf 0·1 *mg* genau abgewogen werden. Es empfiehlt sich, immer 2 Kölbchen hintereinander zu schalten, um ähnlich wie bei den Röhren für die Kohlensäurebestimmung die Gewähr zu haben, daß wirklich alles Wasser aufgenommen wurde. Die Einfügung in die Leitung hat so zu geschehen, daß die Luft durch das lange Glasrohr in die Kölbchen eintritt und durch das kurze sie verläßt.

Der eigentliche Versuch beginnt in dem Augenblicke, in dem die Versuchsperson die Kammer betreten hat. Es ist dann sofort der Stand der großen und kleinen Gasuhren sowie der Thermometer an ihnen abzulesen und, nachdem dies geschehen, der Motor für die große Gasuhr anzustellen. Bei einem Stundendurchlaß von ca. 30—40 *m*³ durch die große Gasuhr geht dann die Luft der Teilströme in kleinen, unzusammenhängenden Blasen durch die Barytlösung, die sich nach und nach durch Bildung von $BaCO_3$ zu trüben beginnt.

Bei gutem Funktionieren des Elektromotors kann man dann den Versuch sich selbst überlassen, nur ist es nötig, alle 2—3 Stunden die Temperaturen an den Gasuhren zu notieren. Bei Benutzung eines Anfeuchters (*F*, Fig. 73) muß dieser hin und wieder mit Wasser gespeist werden.

Gleich nach Beginn des Versuches bestimmt man den Titer der Barytlauge, indem man in der oben beschriebenen Weise 30 *cm*³ der Lauge mit Oxalsäure titriert.

Die Abstellung des Versuches ist außerordentlich einfach. Der Elektromotor wird abgedreht und sofort Zeit, Barometer, Temperatur und Stand der Gasuhren abgelesen. Die Versuchsperson kann dann den Apparat verlassen.

Ehe die Barytröhren aus ihren Verbindungen gelöst werden, müssen sie ganz horizontal eingestellt sein, damit nichts von ihrem Inhalt ver-

loren geht. Die Flüssigkeit wird rasch in Glasflaschen, die nach Art der Bierflaschen mit einem Kautschukverschluß versehen sind, eingegossen. Die Flaschen müssen so groß sein, daß die Flüssigkeit sie gerade ganz füllt, da sonst leicht die Kohlensäure der mitabgeschlossenen Luft in die Barytlösung übergeht. Die Flaschen sind sofort nach Einfüllen der Lösung luftdicht zu verschließen.

Bis zur Titration läßt man einige Zeit vergehen, damit das Baryumkarbonat sich absetzen kann.

Nach 1—2 Stunden wird von der überstehenden, ziemlich klaren Flüssigkeit mit einer Pipette, die für 30 *cm*³ geaicht ist, eine Probe entnommen und in gleicher Weise wie zu Anfang mit Oxalsäure titriert. Es empfiehlt sich der größeren Genauigkeit wegen stets Doppelbestimmungen vorzunehmen.

Ferner müssen noch die Kölbchen zur Wasserdampfbestimmung aus der Nebenstromleitung herausgenommen werden. Um zu verhindern, daß Wasserdampf noch weiter in sie eindringt, werden die Klammern gleich nach Abstellung der Gasuhr auf die Schlauchstücke aufgesetzt. Die Kölbchen sind dann wieder zu wägen.

Berechnung der Versuchsresultate

Die in der Luft der Teilströme enthaltene Menge Kohlensäure und Wasserdampf ist in einfachster Weise zu berechnen. Man braucht nur von der zu Anfang zur Neutralisation der 30 *cm*³ Barytlauge nötigen Menge Kubikzentimeter Oxalsäure die Zahl der Kubikzentimeter abzuziehen, die bei der Endtitration der Inhaltsproben aus der großen und der kleinen Röhre zugesetzt werden mußten (Differenzwert d und d_1). Da 1 *cm*³ Oxalsäure 1 *mg* CO_2 entspricht und die gesamte Menge Barytlauge pro Teilstrom 135 + 90 *cm*³ = 225 *cm*³ beträgt, so ist $\frac{d \times 135}{30} + \frac{d_1\ 90}{30}$ die Menge CO_2 in Milligramm, welche in der Luft eines Teilstromes enthalten ist. Da der eine Teilstrom I dazu dient, den Kohlensäuregehalt der in den Apparat eingesogenen Luft zu bestimmen, so braucht nur zur Berechnung der während des Versuches gebildeten Menge CO_2 von der Menge CO_2 pro Teilstrom II der Wert für I in Abzug gebracht zu werden.

In ganz analoger Weise gestaltet sich die Berechnung für den Wasserdampf. Beträgt das Gewicht der Kölbchen in Teilstrom I zu Anfang a und a′, bei II b und b′ und die Gewichtszunahme während des Versuches bei a : qg, bei a′: rg, bei b : sg und bei b′ : tg, so ist die im Versuch gebildete Menge Wasserdampf = (s + t) — (q + r) g.

Die geschilderte Berechnungsart gilt nur für den einfachsten Fall, daß die beiden Teilstromapparate nur einfach angelegt sind und daß beide Gasuhren ganz gleichmäßig gehen.

Da es aber zweckmäßig ist, vier derartige Apparate (2 für die Untersuchung des Einstroms, 2 für die Untersuchung des Ausstroms zu

gebrauchen und da ferner die 4 Gasuhren häufig nicht ganz gleich gehen, muß man in Analogie zu der obigen Berechnung den Wasserdampf- und Kohlensäuregehalt in jeder einzelnen Leitung durch Wägung, beziehungsweise Titration bestimmen und ausgehend von der während des Versuches durch die einzelne Gasuhr gehenden Luftmenge die Werte pro 1 m^3 Luft umrechnen. Der Durchschnittswert der beiden Parallelberechnungen für die ausströmende Luft, abzüglich des entsprechenden Wertes für die einströmende Luft, gibt dann die Wasserdampf- und Kohlensäurebildung während des Versuches pro 1 m^3 Ventilationsluft an.

Notwendig ist nun nur noch die Umrechnung auf die gesamte Luftmenge, welche die Kammer während des Versuches verlassen hat.

Das Luftvolumen, das während des Versuches die große Gasuhr passiert hat, ist nur dann mit dem von der kleinen angezeigten direkt, ohne Umrechnung, vergleichbar, wenn es auf gleiche Temperatur und gleichen Feuchtigkeitsgehalt gebracht worden ist. Da die Luft in den Gasuhren ohne Fehler als mit Wasserdampf gesättigt angenommen werden kann, ist für den Feuchtigkeitsgehalt kein besonderer Faktor anzubringen.

Aus den Einzeltemperaturablesungen während des Versuches berechnet sich die durchschnittliche Temperatur der Gasuhren. Differieren diese nicht, so kann die Umrechnung sofort vor sich gehen. Ist das Volumen des Teilstromes II v Liter, das der in der großen Gasuhr gemessenen Luftmenge V, die Menge CO_2 im Teilstrom c, so beträgt die Gesamtmenge der Kohlensäure in der Ventilationsluft

$G = \frac{c\,V}{v} + c$, oder wenn die Umrechnung in der oben erwähnten Weise vorgenommen wurde und c_1 der Gehalt an Gramm CO_2 pro 1 m^3 beträgt, $G = \frac{c_1\,(V + v)}{1000}$. Differieren die Temperaturen, so kann man entweder das von der großen Gasuhr angezeigte Luftvolumen bei der abgelesenen Temperatur umrechnen auf die Temperatur in den kleinen Gasuhren, oder man bringt alle Luftvolumina auf die absoluten Werte von 0°, 760 mm Hg und absolute Trockenheit und rechnet dann wie oben aus. Die Reduktionen werden am zweckmäßigsten mit den Tabellen von *Börnstein* und *Landolt*[1]) ausgeführt.

In ganz der gleichen Weise wird die Gesamtmenge des während des Versuches gebildeten Wasserdampfes bestimmt

$W = \frac{w\,V}{v} + w$, wenn w die im Teilstrom gefundene Wassermenge ist und v und V die gleiche Bedeutung haben wie in der vorigen Gleichung.

Nun stellt der Gehalt der durch die große Gasuhr passierten Luftmenge an Kohlensäure und Wasserdampf noch nicht den Gesamtbetrag

---

[1]) Eine genaue Besprechung der Art der Reduktion eines Luftvolumens auf die Normalverhältnisse findet sich bei *Franz Müller* in Bd. 3, S. 588 dieses Handbuches. Auch die wichtigsten Tabellen aus *Börnstein-Landolt* sind dort abgedruckt.

dieser während des Versuches gebildeten Stoffe dar, weil noch ein Teil in der Respirationskammer zurückgeblieben ist.

Unter der Annahme, daß die Entwicklung der Kohlensäure im Versuch ziemlich gleichmäßig vor sich gegangen ist, berechnet *Pettenkofer* die in der Kammer zurückgebliebene Kohlensäure in folgender Weise: Der Inhalt der Kammer beträgt nach Abzug von Fußboden und Möbel 12 m^3, die Ventilation durch die große Gasuhr betrage 500.000 *l* mit einem Gehalt von 500 *g* CO_2. Die Menge der zuletzt in der Kammer entwickelten und zurückgebliebenen Kohlensäure ist proportional der Kohlensäure in der durch die große Gasuhr gegangenen Luft, wenn man sie auf ein um 12.000 *l* kleineres Volumen berechnet; denn die anfänglich in der Kammer befindlichen 12.000 *l* sind einer Verdünnung, einer Verringerung der Differenz im Kohlensäuregehalt gleich zu achten. Unter Verwendung der obigen Zahlen wäre dann zu berechnen, wie viel CO_2 noch in den 12.000 *l* der Kammer vorhanden ist, wenn 500.000 - 12.000 = 380.000 *l* 500 *g* enthalten. Der Wert ist $\frac{500 \times 12.000}{380.000} = 15{\cdot}8\,g$ CO_2. Diese Berechnungsart ist um so genauer, je größer das ventilierte Luftvolumen gegenüber dem Inhalt der Kammer ist, bei einem 6mal größeren Wert beträgt der Fehler nur $^1/_{20}$ %.

Pettenkofer und *Voit* haben auch versucht, auf indirektem Wege den Sauerstoffverbrauch zu bestimmen, indem sie von dem Endgewicht der Versuchsperson beziehungsweise eines Tieres und den Gesamtausgaben während des Versuches das Anfangsgewicht und die Gesamteinnahmen abzogen.

Sie geben selbst folgendes Beispiel für ihre Berechnungsart.[1]

24stündiger Versuch bei einem Hunde:

Anfangsgewicht		= 29.944 *g*	Endgewicht	29.873 *g*
Gefüttert	Fleisch	= 500 „	Harn	438·8 „
	Stärke	= 200 „	Kot	1·1 „
	Fett	= 6·6 „	Kohlensäure	416·0 „
	Wasser	= 144·5 „	Wasser	359·9 „
		= 30.795·0 *g*		= 31.088·8 *g*

$$
\begin{array}{r}
31{\cdot}088{\cdot}8 \\
-\ 30{\cdot}795{\cdot}0 \\
\hline
293{\cdot}8\ g\ O_2.
\end{array}
$$

Es leuchtet ein, daß diese indirekte Berechnungsart nur approximative Werte geben kann, da alle Analysen und Wägungsfehler sich bei der Differenzzahl für den Sauerstoff summieren müssen. Erwähnt sei auch noch, daß sich mit dem Apparat auch eine Bestimmung von H, und Grubengas verbinden läßt.[2])

[1]) Untersuchungen über die Respiration. Ann. d. Chemie u. Pharmaz. II. Suppl.-Bd. S. 59 (1862—1863).

[2]) l. c. S. 35 und 65.

Für Versuche am Menschen kann man auf derartige Analysen ohne jedes Bedenken verzichten, da die vom Menschen produzierten Mengen dieser Gase zu geringfügig sind, um quantitativ in Betracht zu kommen.

Vor- und Nachteile der *Pettenkofer*schen Methode.

Pettenkofer, *Voit* und ihre Mitarbeiter haben sehr zahlreiche Kontrollversuche ausgeführt, um den mittleren Fehler ihres Apparates kennen zu lernen.[1] Der Mittelwert sämtlicher 48 Bestimmungen beträgt für die Kohlensäure = 1·96%, der mittlere Fehler für die Wasserdampfbestimmung ist höher. Die sehr zahlreichen einwandfreien Analysen von *Pettenkofer*, *Voit* und seinen Mitarbeitern zeigten Fehler zwischen 2·5 und — 4·4%.

Rubner hat keine Kontrollbestimmungen für seinen Apparat mitgeteilt, *Steyrer* gibt für die Kohlensäurebestimmung in seiner Kammer + 1·2% als Fehler an, der Wasserdampf ist von ihm nicht untersucht worden.

Die angeführten Zahlen zeigen, daß wir in dem *Pettenkofer*schen Verfahren eine besonders für die Kohlensäurebestimmung sehr exakte Methode besitzen, während die Genauigkeit der Wasserdampfbestimmung wie bei fast allen großen Respirationsapparaten auch hier zu wünschen übrig läßt.

Das *Pettenkofer*sche Verfahren ist die klassische Methode für 24 Stundenversuche geworden, sie hat in der Hand von *Pettenkofer*, *Voit*, *Rubner* u. a. eine Fülle der fundamentalsten Tatsachen der Stoffwechselphysiologie zutage gefördert, es war die erste genaue Methode und Jahrzehnte lang auch die einzige. Prinzip und Ausführung der Methode sind außerordentlich einfach, und es ist ein großer Vorteil, daß, wenn der Versuch einmal in Gang ist, er nicht weiter beaufsichtigt werden braucht, nur Thermometer und eventuell Barometerablesungen sind in mehrstündlichen Intervallen nötig.

Die große Geräumigkeit der Kammer sowie die rasche Ventilation benehmen der Versuchsperson jedes Unbehagen, die Methode ist daher auch zur Untersuchung Kranker sehr geeignet.

Trotz aller dieser großen Vorteile ist jedoch kaum anzunehmen, daß diese klassische Methode noch eine große Zukunft hat.

Der Hauptnachteil ist der, daß eine exakte Sauerstoffbestimmung unmöglich ist, die oben geschilderte Art der indirekten Ermittelung ist zu ungenau, um brauchbare Resultate zu ergeben. Eine genaue Bestimmung der Art des umgesetzten Materials ist aber ohne gleichzeitige Kenntnis des Sauerstoffverbrauches kaum möglich, wenn auch unter gewissen Bedingungen, wenn z. B. der Organismus mit einer Nahrung sich vollständig im Gleichgewicht befindet, die Kenntnis der Kohlensäure allein immerhin ungefähr richtige Resultate vermitteln kann, wie zahlreiche Untersuchungen

[1]) Vgl. außer den zitierten Arbeiten auch *C. Voit*, *E. Voit* und *J. Forster*, Zeitschr. f. Biolog. Bd. **11**. S. 126 (1875).

von *Voit* und seinen Schülern zeigten. Die Berechnung geht dabei von der Annahme aus, daß die Kohlehydrate immer zuerst vor den Fetten verbrennen, eine Voraussetzung, die durchaus nicht immer gegeben ist. Überall da, wo abnorme Umsetzungen im Organismus (z. B. beim Diabetiker) oder Synthesen, wie z. B. bei der Mast nach langer Inanition stattfinden, genügt die alleinige Kenntnis von Kohlensäure niemals, und für die Untersuchungen der Pathologie des Stoffwechsels ist das natürlich ein großer Übelstand.

Noch größere Schwierigkeiten als die Beurteilung der Art des verbrannten Materials (der Mengenverhältnisse von Fett und Kohlehydraten) macht der Versuch, nur mit Hilfe der Kohlensäureproduktion die Energieproduktion zu berechnen.

Während für den Sauerstoff der kalorische Wert je nach der Art des umgesetzten Materials (Fett oder Stärke) nicht sehr erheblich differiert (nach *Zuntz*[1]) pro 1 CO_2 zwischen 4·795—5·0581, nach *Rubner*[2]) zwischen 4·686—5·047), sind die Differenzen für die Kohlensäure sehr groß (Calorisches Äquivalent eines 1 CO_2 für Fett 3·37, für Kohlehydrate 2·57 Cal.)[3])

Daraus folgt, daß jeder Berechnung der Wärmeproduktion auf Grund der Kohlensäurebildung von vorneherein eine große Unsicherheit anhaftet.

Die Differenzen gegenüber der auf Grund von Kohlensäure und Sauerstoff ermittelten Kalorienabgabe können bis 20% betragen. Ein sehr instruktives Beispiel dafür, aus dem auch die Art der Berechnung hervorgeht, findet sich bei *Stähelin*.[4])

Bei der großen Bedeutung, die gerade heute die energetische Betrachtung der Stoffwechselprobleme besitzt, fällt dieser Mangel einer zuverlässigen Kalorienbestimmung besonders schwer ins Gewicht.

Eine gewisse Schwierigkeit für die Anwendung des Apparates zumal bei Kranken liegt darin, daß die Versuche über sehr lange Zeit ausgedehnt werden müssen, um genaue Resultate zu liefern. Die Ursache dafür ist die große Dimension der Kammer und die Schwierigkeiten, bei kleiner Ventilation den CO_2-Gehalt der in der Kammer zurückgebliebenen Luft exakt zu bestimmen. Die oben geschilderte Methode *Pettenkofers* gibt um so größere Fehler, je geringer die Ventilationsgröße, d. h. also, je kürzer die Versuchszeit ist.

Eine Versuchsdauer von 4—6 Stunden ist die kürzeste Zeit, in der die Bestimmungen noch genau werden. Die oben erwähnten Fehlergrößen in den Kontrollversuchen beziehen sich überwiegend auf wesentlich längere Versuchszeiten.

Den Nachteil, daß der zeitliche Ablauf der Kohlensäurebildung bei dem geschilderten Verfahren sich nicht genau bestimmen läßt, kann man

[1]) *N. Zuntz* und *A. Loewy*, Lehrbuch der Physiol. des Menschen. S. 663 (1909).

[2]) *Rubner* in *Tigerstedts* Handbuch der Physiol. Methodik. Bd. **1**. 3. Abt. S. 181 (1911).

[3]) *Tigerstedt*, ebenda. S. 74.

[4]) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. **66**. (Selbstversuch 4) und Charité-Annalen. XXXIII. Jahrg. S. 3 (1910).

dadurch beseitigen, daß man entweder, wie *Pettenkofer* es selbst schon vorgeschlagen[1], in geeigneten Intervallen eine Luftprobe aus der Kammer nimmt und sie analysiert, am zweckmäßigsten wohl durch Gasanalyse; oder aber man kombiniert, wie *v. Bergmann*[2]) es angegeben hat, den Respirationsversuch im *Pettenkofer*schen Apparat mit einem *Zuntz-Geppert*-Versuch.

Der Einwand, der gegen alle Teilstromverfahren mit ihrer großen Multiplikation der Analysenwerte erhoben wurde, gilt natürlich auch für das *Pettenkofer*sche Verfahren. Das Verhältnis von Teilstrom zur Ventilationsgröße beträgt etwa 1 : 10 bis 12.000. Daß der Einwand meiner Ansicht nach praktisch keine Bedeutung hat, wurde oben schon erwähnt.

Apparate nach dem Prinzipe von Jaquet.

(Der *Jaquet*sche Originalapparat (Basel)[3]), der Apparat von *Grafe* (Heidelberg)[4]), der Apparat von *Stähelin* (Berlin).[5])

Prinzip der Methode: Auch diese Methode analysiert ähnlich dem *Zuntz*schen und *Pettenkofer*schen Verfahren nur Teilströme der Luft.

Zur Ventilation der großen Respirationskammer dient eine Gasuhr. Vor dem Eintreten der Luft in diese wird durch eine dünne, kurze Rohrleitung ein Teilstrom in einem Glasgefäß über Quecksilber abgesaugt.

Durch Zahnräder und Kandangelenke überträgt sich die Bewegung der Gasuhr in stark verlangsamtem Maße auf die Achse einer Spule, an der ein Faden aufgewickelt ist, der einen mit Quecksilber gefüllten Gummischlauch trägt. In dem Maße, wie durch Umdrehung der Achse der Faden sich abrollt, sinkt der Schlauch, der von ihm getragen wird, und mit ihm das Quecksilberniveau darin. Da dies Quecksilber in kommunizierender Verbindung mit dem Quecksilber in dem Absaugegefäß für den Teilstrom steht, müssen beide Niveaus stets gleichmäßig und synchron mit dem Gang der Gasuhr sinken. Die Luft des Glasgefäßes wird dann mit einem sehr feinen Gasanalyseapparat nach *Petterson-Palmqvist-Tobiesen* auf den Gehalt an CO_2 und O_2 analysiert. Die Werte können an der Skala direkt in Prozenten genau abgelesen werden. Da die zur Ventilation benutzte Luftmenge an der Gasuhr ablesbar ist und Temperatur und Druck auch fortlaufend bestimmt werden, braucht für die Berechnung nur das Luftvolumen auf 0°, 760 *mm* Druck und Trockenheit umgerechnet zu werden. Durch Anbringung eines Thermobarographen nach *Zuntz* kann diese Rechnung vereinfacht werden.

Auch Wasserdampfbestimmungen sind bei dieser Methode möglich.

[1]) l. c. S. 34.

[2]) Zeitschr. f. experim. Patholog. u. Therapie. Bd. 5 (1909).

[3]) Verhandlungen der naturforschenden Gesellschaft Basel. Bd. 15. S. 23 u. ff. (1903).

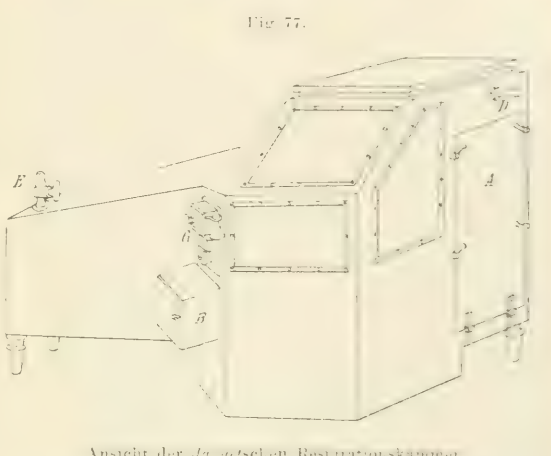
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 65. S. 1 u. ff. (1910).

[5]) *Stähelin* und *Kessner*, Charité-Annalen. Jahrg. XXXIII. Sonderabdruck.

Beschreibung der Apparatur.

Bei der Konstruktion der Kammer des *Jaquet*schen Originalapparates war hauptsächlich der Gesichtspunkt maßgebend, die Dimensionen so klein zu halten, daß ein längerer Aufenthalt sowohl in liegender wie in sitzender Stellung noch eben möglich ist. Das Bestreben, möglichst überall Raum zu sparen, führte dann zu der eigentümlichen Kammerform, die halb wie eine Postkutsche, halb wie ein Sarg aussieht (vgl. Fig. 77). Der Kubikinhalt der aus Eisenblech sehr massiv gebauten Kammer beträgt nur 1387 *l*. Durch Anbringung von 4 Fensterscheiben in dem seitlichen, besonders für den Aufenthalt einer sitzenden Versuchsperson berechneten Anbau ist für Helligkeit des innen mit weißer Ölfarbe angestrichenen Raumes gesorgt. Die Tür ist an der Rückwand bei *A* angebracht. Sie ist nach unten aufklappbar und innen mit einer Schienenführung versehen, über welche in bequemer Weise das Versuchsbett die kurze schiefe Ebene hinaufgerollt werden kann. Um einen möglichst luftdichten Abschluß zu ermöglichen, ist der Rand der Türe mit einer Rinne versehen, in der ein Radfahrschlauch liegt, der erst aufgeblasen wird, wenn die Türe geschlossen wird. Vier kräftige Klammern drücken die so abgedichtete Tür dann fast in die Umrahmung hinein. An dem seitlichen Vorbau ist bei *B* ein kleiner Kasten angeheftet, der 2 Türen hat, so daß bei Benutzung eine direkte Verbindung des Innenraumes der großen Kammer mit der Außenwelt vermieden wird. Der Kasten dient zur Aufnahme der Nahrung, sowie der Exkremente und ist in sehr einfacher Weise von beiden Seiten zu bedienen. Zur weiteren Verständigung ist ein Telephon mit Klingellage angebracht.

Fig. 77.



Ansicht der *Jaquet*schen Respirationskammer. (Buchstabenerklärung im Text.)

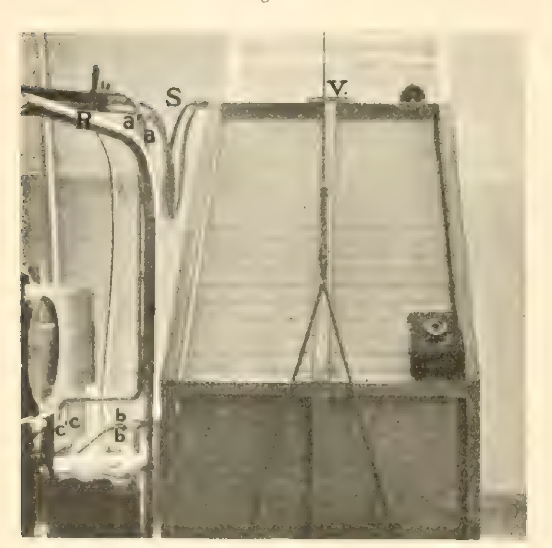
Durch verschiedene mit Kautschukpfropfen verschließbare Öffnungen können Thermometer, ferner Glasröhrchen zur Entnahme einer Probe der Kammerluft in die Kammer eingeführt werden. Durch eine derartige Öffnung läßt sich auch ein Schlauch einführen, der während des Versuches abgesperrt ist, am Ende aber von der Versuchsperson zur Atmung benutzt werden kann. *Jaquet* empfiehlt nämlich, daß am Ende des Versuches der Untersuchte aufhört in die Kammer zu atmen, deren Luft dann durch ein Flügelrad, das durch ein Uhrwerk getrieben wird, gründlich gemischt

werden kann. Die Luft wird durch eine besondere Rohrleitung direkt aus dem Freien dem Kasten zugeführt, tritt hier bei *C* ein und bei *D* aus.

Grafe hat die Raumverhältnisse besonders im Hinblick auf die Untersuchung Schwerkranker, die in einem kleinen Raum sich zu leicht beengt fühlen, bei seinem Apparate nahezu doppelt so groß gewählt (2634·7 *l*). Fig. 78 zeigt den Kasten geschlossen, Fig. 79 geöffnet.[1])

Die Grundfläche des Kastens ist ein Rechteck (Kopf- und Fußseiten 90, Längsseiten 200 *cm*), der Kopfteil des Kastens ist 70 *cm* hoch, behält diese Höhe aber nur auf die Länge eines Meters, von da an ist er nach dem nur 75 *cm* hohen Fußende abgeschrägt. Das Gerüst der Kammer besteht aus dicken, fest aneinandergefügten Holzplanken, die besonders an den Kanten und Fenstern durch starke Quer- und Längsbalken eine feste Stütze erhalten. In die Vorder- und Seitenwände, sowie die Decke sind große Fensterscheiben aus dickem Glase vollkommen luftdicht eingesetzt. Der Kasten ist an der Innenseite, sowie am Boden mit vulkanisiertem Eisenblech vollkommen luftdicht ausgeschlagen und mit weißer Ölfarbe angestrichen. Da die Undichtigkeiten erfahrungsgemäß an der Türe am leichtesten eintreten und das Öffnen und Schließen einer Türe oft Umstände macht, wurde auf die Anbringung einer Türe ganz verzichtet und der ganze Kasten zum Öffnen und Schließen eingerichtet (Fig. 78 u. 79). Zu dem Zwecke dürfen Seitenwände und Boden nicht miteinander in fester Verbindung stehen. Der Boden *B* (Fig. 78), der auf kurzen Rollen ruht, besteht aus einem sehr massiven Holzgestell, an dessen Seiten eine ca. 5 *cm* breite und ebenso tiefe, mit Eisenblech luftdicht ausgeschlagene Rille verläuft, in welche die unteren Ränder der Seitenwände gerade hineinpassen. Die Rille wird mit Paraffinum liquidum so weit gefüllt, daß das Fett 2—3 *cm* hoch steht. Läßt man den an der Kopfseite des Apparates gekanteten Kasten nieder, so ist ein vollkommen luftdichter Abschluß mit voller Sicherheit erzielt. Der Boden enthält eine Schieneneinlage (Fig. 79 *S*), an welche eine kurze Schienen-

Fig. 78.

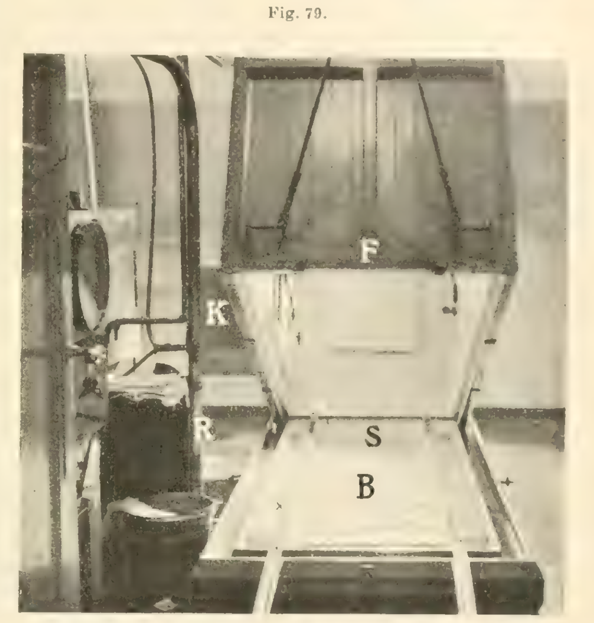


Ansicht der *Grafe*schen Respirationskammer in geschlossenem Zustande. (Buchstabenerklärung im Text.)

[1]) Die diesen Abbildungen zugrunde liegenden Photographien verdanke ich der großen Freundlichkeit von Herrn Prof. Dr. *F. Benedict*.

anfahrt paßt, über die das Versuchsbett in die Kammer geschoben wird. Das Öffnen und Schließen des Kastens ist durch Heben und Senken des Fußteiles *(F)* an 2 Griffen außerordentlich rasch und leicht ausgeführt. An diesen Griffen ist ein dickes Seil befestigt, welches, durch die Decke des Zimmers geführt, im Dachstuhl über eine Rolle läuft und ein schweres Gegengewicht trägt. So ist das Gewicht des Kastens nahezu ausbalanciert und ein leichter Druck und Zug genügen für die Bedienung. Im Innern des Kastens sind Telephon, Klingelanlage, Klapptische und ein Deckenventilator angebracht, ferner findet sich an der Seite ähnlich wie bei *Jaquet*s Apparat ein Kasten (40 × 40 × 40). Sein Deckel liegt in einer entweder mit Wasser oder Paraffin gefüllten Rinne. Innen wird er durch eine mit Gummi belegte Schiebetür, welche durch zwei große Schrauben fest gegen die Gummirahmen der Tür gepreßt werden kann, luftdicht geschlossen. Die Luft tritt an der Kopfseite des Kastens durch eine kurze Rohrleitung, die mit einem Wasserhahnverschluß gesperrt werden kann, ein und verläßt die Kammer am Boden (bei x Fig. 79). Sie geht von hier durch ein breites gebogenes Rohr *(R)* zur Gasuhr. Zur Luftentnahme direkt aus dem Kasten sind an 2 Stellen kleine mit kurzem Glasrohr durchbohrte Gummistopfen in zwei kleine ausgebohrte und mit Eisenblech ausgelegte, runde Öffnungen der Kastenwand angebracht. Sie werden durch Gummischläuche mit Quetschhahn verschlossen. Auch Thermometer und eventuell Hygrometer befinden sich im Apparat.

Fig. 79.

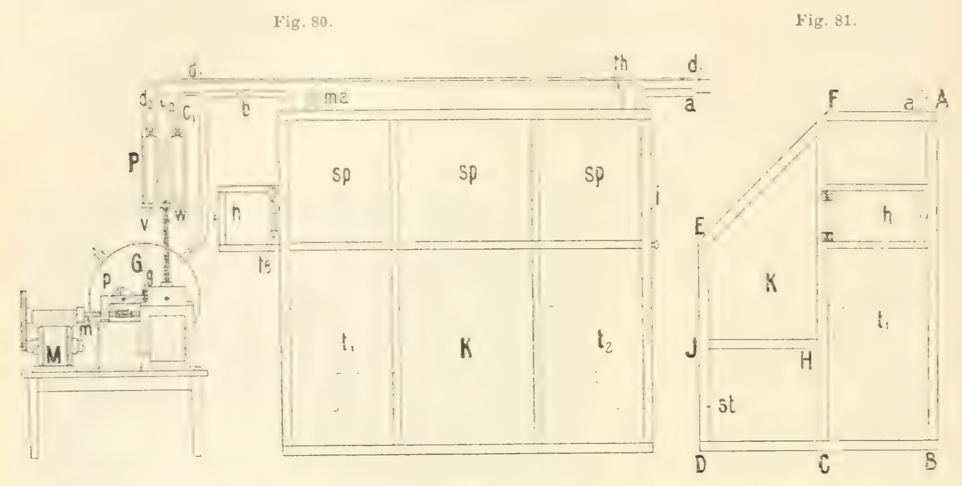


Ansicht der *Grafe*schen Respirationskammer in geöffnetem Zustande.
Das Öffnen geschieht bei der Kammer durch Kanten des Kastendaches bei F. Der Deckel ist durch Seile mit Gegengewicht, die an F befestigt sind, annähernd in jeder Lage ausbalanciert. (Buchstabenerklärung im Text.)

Die Dimensionen der von *Stähelin* und *Kessner* konstruierten Respirationskammer des Apparates der I. medizinischen Klinik der Charité in Berlin sind noch etwas größer wie die der beiden bisher skizzierten Kasten. Der Inhalt des ganzen Raumes beträgt 3250 *l*. Die Form geht aus Fig. 80 und 81 deutlich hervor. Fig. 80 stellt die Vorderansicht, Fig. 81 das Profil der Kammer dar. Der Innenraum zerfällt demnach in zwei Teile, einen vorderen würfelförmigen (*A*, *B*, *C*, *F*) von 180 *cm* Höhe, 60 *cm*

Breite und 2 *cm* Länge, er ist zum Stehen und Gehen gedacht. Daran schließt sich nach hinten ein abgeschrägter Ausbau an *(H, J, E, F)*. Seine Unterfläche *JH*, welche als Bettstatt dient, liegt 50 *cm* höher als der Boden, die Rückwand ist 60 *cm* hoch. Als Bettunterlage dient eine dreiteilige mit Ledertuch überzogene Roßhaarmatraze.

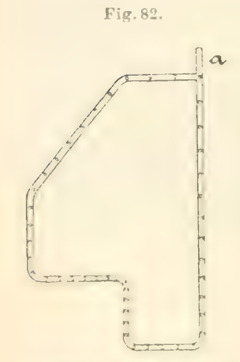
Fig. 80. Fig. 81.



Gesamtansicht des Respirationsapparates von *Stähelin* und *Kessner*. (Kammer in Vorderansicht.)

Seitenansicht der Respirationskammer von *Stähelin* und *Kessner*.

Fig. 82.



Anordnung der Löcher für den Luftzutritt zur Respirationskammer von *Stähelin* und *Kessner*.

Die Kammer ist, um auch für Wasserdampfbestimmungen die günstigsten Verhältnisse zu schaffen, aus Glas und schmalen Eisenrippen konstruiert.

Die Glasscheiben sind entweder wie an den unteren Teilen des Apparates in Zement gegossen oder fest in ganz homogenen Kit gebettet.

An der einen Seitenwand (bei *i*, Fig. 80) findet sich die Türe, gegenüber bei *h* ein doppelt abschließbarer Schleusungskasten (60 × 35 × 35). Sämtliche Türen sind durch Gummieinlagen abgedichtet.

Im Innern der Kammer befinden sich Glühlampen, Klingel, Telephon, Klapptische und Hülsen für Thermometer, Manometer etc.

Alle Durchtrittsstellen für Leitungsschnüre etc. sind vollkommen luftdicht abgeschlossen.

Besondere Sorgfalt wurde auf eine möglichst gleichmäßige Verteilung der Luft im Innern des Kastens verwandt.

An das Luftzuleitungsrohr wurde zu diesem Zwecke ein mit seitlichen Öffnungen versehenes Rohr an jeder Frontalwand angebracht. Es war (vgl. Fig. 82) genau dem Profil der Kammer entsprechend angebracht.

Die Entfernung der Löcher (je zwei von 5 *mm* Durchmesser nebeneinander) voneinander verringerte sich mit zunehmendem Abstand von

der Eintrittsstelle. In ganz analoger Weise verzweigte sich auch das Rohr, welches die abströmende Luft gleichmäßig dem Kasten entnehmen soll.

Versuche mit Tabakrauch, der in der Einstromöffnung entwickelt wurde, ergaben, daß durch diese Rohranlagen die Verteilung der Luft eine so gleichmäßige war, daß die Anbringung eines Ventilators überflüssig erschien.

An den Außenwänden sind überall schwarze Vorhänge angebracht, so daß die Kammer vollkommen verdunkelt werden kann.

Die Luftleitungen bestehen alle aus Glasrohren mit ganz wenigen kurzen Gummiverbindungen, die noch außerdem in sehr sinnreicher Weise unter Wasser abgedichtet sind.

Durch das Rohr *a* (Fig. 80), das durch eine Öffnung des Zimmerfensters ins Freie ragt, wird atmosphärische Luft in die Kammer gesogen und verläßt diese bei *b*.

Die Absaugung des Teilstroms.

Bei allen drei Apparaten wird über Quecksilber ein Teilstrom abgesogen.

Während die Einrichtung an dem *Grafe*schen Apparate sich sehr nahe anlehnt an die *Jaquet*sche Apparatur, ist *Stähelin* auf einem anderen Wege vorgegangen.

Die Einrichtung an dem Baseler Originalapparate geht aus der Fig. 83 deutlich hervor.

Das Rohr *M* führt die Luft aus der Kammer in die Gasuhr. Zur Ventilation des Apparates benutzte *Jaquet* ursprünglich einen durch eine Wasserturbine in Tätigkeit gesetzten Blasebalg, der die Luft aus dem Apparate bei *D* (Fig. 77) ansaugt.

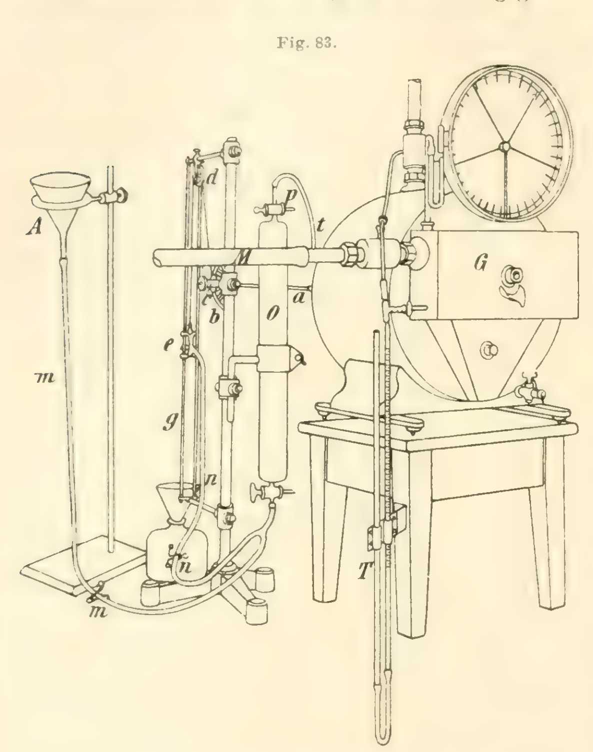
Grafe und *Stähelin* ventilieren in ihren Apparaten direkt mit der Gasuhr, die durch einen Elektromotor angetrieben wird.

Bevor nun die Luft aus der Kammer in die Gasuhr eintritt, zweigt von der Rohrleitung *M* ein kurzes Rohrstück *t* ab, das durch Gummischlauch mit einem großen zylindrischen Glasgefäß *O* in Verbindung gebracht werden kann. *O* ist durch luftdicht schließende Dreiweghähne aus Glas oben und unten abschließbar, so daß *t* und *O* entweder miteinander oder getrennt nach außen kommunizieren bzw. ganz abgeschlossen sein können.

Am unteren Ende von *O* ist ein Gummischlauch angebracht, der sich einige Zentimeter tiefer gabelt. Der eine Schlauch *m* führt zu einem Glastrichter *A*, der zweite *n* zu einem zweiten Schlauch, der an einem kleinen Glasstück *e* an einer Schnur aufgehängt ist. Diese Schnur läuft über die Rolle *d* und ist an einer Spule *c* zum Teil aufgewickelt. Diese Spule sitzt auf der Achse eines größeren Zahnrades *b* auf. Auf dieses werden durch die Treibstange *a*, die beiderseits ein Universalgelenk hat und an einem auf der Achse der Gasuhr angebrachten (in der Figur nicht sichtbaren) Zahnrad angreift, in stark verkleinertem Maßstabe die Umdrehungen der Gasuhr übertragen.

Die Größe der Zahnräder und die Zahl der Zähne ist bei dem *Jaquet*-schen Apparate so gewählt, daß, wenn die (sehr kleine) Gasuhr 200 Umdrehungen macht, der Glaszylinder *O* in der gleich zu beschreibenden Weise mit einem aliquoten Teil der aus der Kammer angesogenen Luft angefüllt ist; so entspricht eine solche Teilluftprobe einem Luftquantum von etwa 2000 *l*. Durch diese automatische Übertragung der Bewegungen der Gasuhr auf die Absaugung des Teilstromes ist garantiert, daß in der Zeiteinheit wirklich immer ganz unabhängig von einem eventuell ungleichmäßigen Gang der Gasuhr das Verhältnis vom Teilstrom zum Hauptstrom konstant bleibt.

Fig. 83.



Übersicht über die Entnahme von Teilströmen der Luft nach dem Prinzipe von *Jaquet*.
Durch ein synchron mit dem Gang der Gasuhr automatisch sinkendes Quecksilberniveau in *O* wird ein Teilstrom der Luft, welche die Gasuhr *(G)* durch die Rohrleitung *(M)* aus der Respirationskammer ansaugt, durch *(t)* in das Glasgefäß *O* übergeführt. (Weitere Zeichenerläuterungen im Text.)

Die Absaugung der Luftprobe während des Versuches geschieht nun in folgender Weise:

Zu Anfang wird das Gefäß *O* mit Quecksilber gefüllt, indem man nach Abklemmung des Schlauches *n* und Öffnung des Hahnes *p*, der dann die Kommunikation mit der Außenluft herstellt, langsam durch *A* und den Schlauch *m* Quecksilber in das Glasgefäß *O* einlaufen läßt, bis es unter vollständiger Verdrängung aller Luft bei *p* hinausläuft, dann wird der Hahn *p* so gedreht, daß das Quecksilber ganz abgeschlossen ist. Es erübrigt dann nur noch den Schlauch *n* zu füllen. Dieser wird durch Aufwicklung des Fadens auf der Spule *c* so weit gehoben, daß *e* etwas über der Höhe von *p* steht, an das Glasstück bei *e* wird dann ein Gummischlauch angesetzt, der in ein auf dem Boden stehendes Glaßgefäß mündet. Dieses dient zum Auffangen des während des Versuches bei *e* ausfließenden Quecksilbers. Zum Füllen von *n* wird das Quecksilberniveau in *A* etwas über die Höhe von *e* gehoben und die Klemme von *n* geöffnet. Am Ausfließen des Quecksilbers in das Sammelbecken merkt man, daß Schlauch *n* bis *e* mit Quecksilber gefüllt ist. Nach Abklemmung des Schlauches mit der Klemme *m*

ist der Apparat zur Entnahme des Teilstromes fertig. Ehe die Verbindung mit dem Hauptstrom hergestellt wird, empfiehlt es sich, den toten Raum bei t durch Ansetzen eines Gummisauggebläses bei p zu spülen, um aus dem toten Raum die stagnierende Luft anzusaugen und ihn mit Luft aus dem Hauptrohr M zu füllen. In dem Augenblick, wo durch Senkrechtstellung des Hahnes bei p, O und t miteinander kommunizieren und durch Drehen der verschraubbaren Spule das Quecksilberniveau in O so eingestellt ist, daß es gerade an der Stelle steht, an welcher O sich oben zum Halse verjüngt, beginnt die Teilstromabsaugung. In dem Maße, als sich die Gasuhr dreht, wickelt sich der Faden bei c ab, mit ihm sinkt das Quecksilberniveau in e und gleichzeitig auch dasjenige in O, das entweichende Quecksilber fließt dann durch e ab. Die Teilstromentnahme ist beendet, wenn O bis zum unteren Hahn mit Luft gefüllt ist. Dann wird die Gasuhr abgestellt und die Hähne bei O so gestellt, daß der Innenraum vollkommen luftdicht abgeschlossen ist. Entweder wird dann das Gefäß O aus seinen Schlauchverbindungen gelöst und die Luft ohne Umfüllen zur Analyse verwandt, was bei der Größe des Gefäßes recht umständlich ist, oder man füllt einen Teil der Luft in ein zweites, kleineres Glasgefäß (in Fig. 83 nicht angebracht) um, das in gleicher Weise wie O am Gestell t befestigt und in gleicher Weise durch einen einfachen mit Trichter versehenen Schlauch mit Quecksilber gefüllt wird. Das zweite Gefäß wird samt einem Ansatzschlauch zur Verbindung mit p mit Quecksilber gefüllt. Nachdem dann O durch geeignete Stellung von p mit dem zweiten Gefäß verbunden ist, wird O wie zu Anfang mit Quecksilber gefüllt und so die zu analysierende Luft in das zweite Gefäß übergefüllt, indem sie dann bis zur Analyse unter starkem Überdruck aufbewahrt werden kann.

Die Abänderungen und Verbesserungen, die *Grafe* an der beschriebenen Teilstromentnahmevorrichtung angebracht hat, sind sehr geringfügig. Sie bestanden im wesentlichen darin, Spulen, Zahnräder und Rollen der verschiedensten Art und Zahl anzubringen, um so die Abwicklung des Fadens je nach Bedarf bei gleichem Gang der Gasuhr rascher oder langsamer zu bewirken. So ließ sich das Verhältnis zwischen Teilstrom und Hauptstrom in der Breite von 1 : 300 bis 1 : 5000 beliebig variieren.

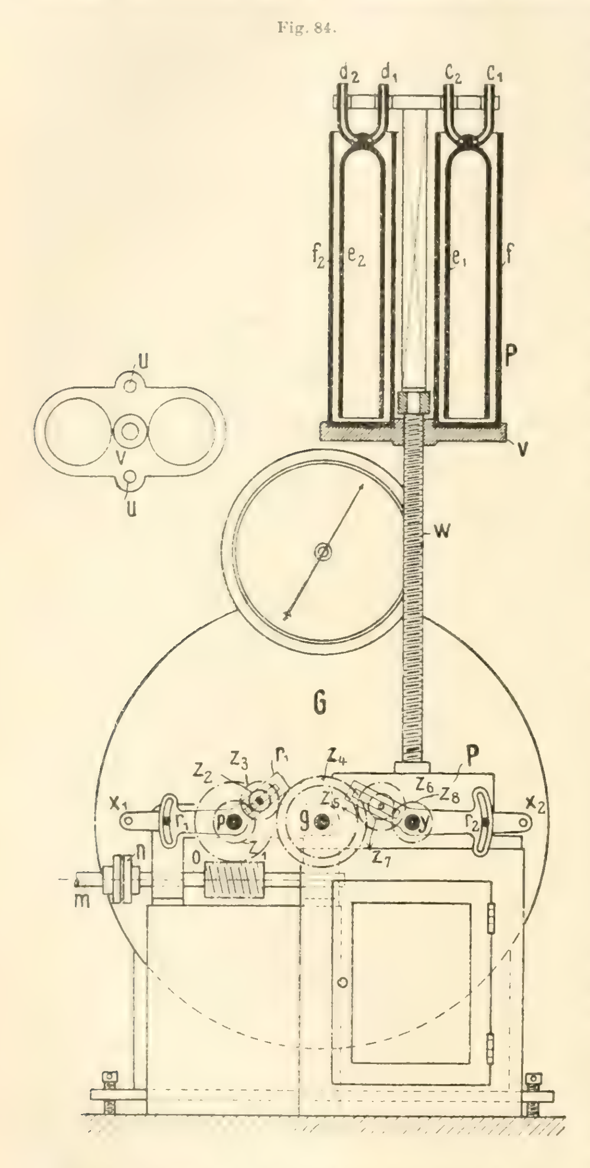
Wesentlich eingreifender und sehr sinnreich ist die Änderung, die *Stähelin* bei seinem Apparat an der Teilstromentnahme vornahm. Er trug dabei zu gleicher Zeit der Notwendigkeit, stets Parallelproben der in seiner Zusammensetzung sehr schwankenden atmosphärischen Luft gleichzeitig vorzunehmen, Rechnung.

Das Prinzip der *Stähelin*schen Teilstromabsaugung beruht darin, daß (vgl. Fig. 84) die Gefäße e_1 und e_2, welche zu Anfang des Versuches bis oben mit Quecksilber gefüllt sind, sukzessive dadurch entleert werden und mit Luft sich füllen, daß die Platte r mit den Zylindern f_1 und f_2 durch Zahnradübertragung von der Achse der Gasuhr an dem Schraubengang w sukzessive herabsteigt. Das eine Gefäß dient zur Entnahme der atmosphärischen Luft, das andere zur Gewinnung einer Probe aus dem Abzugsrohr der Kammer.

Im einzelnen ist die Einrichtung (vgl. Fig. 84) folgende[1]):

Die Welle *(m)* des zum Antrieb der Gasuhr benutzten Elektromotors der mit dem Strom der gewöhnlichen Stadtleitung gespeist werden kann, überträgt ihre Umdrehungen mittelst einer elastischen Kuppelung *n* auf die Schneckenwelle *o* und von hier über Schnecke und Schneckenrad auf die Welle *p*, die konstant 3 Umdrehungen in der Minute macht. Auf der Welle *p* und der um *p* drehbaren Wechselräderschere *r* lassen sich leicht verschieden große Zahnräder (Z_1, Z_2, Z_3) befestigen; durch Einschaltung der entsprechenden Wechselräder kann die Ventilationsgröße zwischen 1000 und 6000 *l* in der Stunde variiert werden.

Fig. 84.



Die Vorrichtungen zur Entnahme der Teilströme an dem Respirationsapparate von *Staehelin* und *Kessner*. (Erläuterungen im Text.)

Die Platte *v*, auf welcher die Quecksilberzylinder stehen, wird durch Drehung der Welle *y* durch (in der Figur nicht sichtbare) Kegelräder gedreht. Die Zahnräder z_5—z_8 übertragen die Bewegung der Gasuhrwelle *g* auf *y* und damit auch auf die Schraubenspindel *w*. Bei jeder Umdrehung von *w* sinken die Quecksilbergefäße f_1 und f_2 um die Höhe eines Schraubenganges und saugen durch das Tiefertreten des Quecksilberniveaus in ihnen durch die Rohre c_1 und d_1 Proben aus der Zustrom- und Abstromluft der Kammer in die Glasgefäße e_1 und e_2.

[1]) l. c. S. 17 und ff.; dort noch weitere Einzelheiten.

Dabei sind die Verbindungen nach c_2 und d_2 geschlossen. Um zu verhindern, daß bei sehr langsamer Ventilation die Luft in c_1 sich mit dem Abstrom in b (vgl. Fig. 80) mischt, ist bei c_1 noch ein kleines Quecksilberventil angebracht.

Sämtliche Zahnräder z_5—z_8 können ausgewechselt werden, das erste sitzt auf der Gasuhrwelle, die anderen auf der Schere r_2. Durch entsprechende Wahl der Zahnräder kann die Übersetzung so reguliert werden, daß der Teilstrom sich in jeder beliebigen Größe zwischen 1 : 1000 und 1 : 60.000 variieren läßt.

Sobald die Gefäße e_1 und e_2 mit Luft gefüllt sind oder der Versuch schon vorher abgebrochen werden soll, dreht man die Schere r_2 mit dem Handgriff x_2 und schraubt sie fest. Die Räder z_5 und z_6 sind dadurch ausgeschaltet, während die Gasuhr weiter gehen kann.

Der Inhalt von e_1 und e_2 wird dann in ähnlicher Weise, wie oben beschrieben, in Glaspipetten (von 250—300 cm^3 Inhalt) umgefüllt. Nur werden zweckmäßig zwei solcher Pipetten durch Gabelung eines zu einem Quecksilberreservoir führenden Schlauches nebeneinander geschaltet, die eine mit c_2, die andere mit d_2 verbunden, nachdem beide mit Quecksilber gefüllt sind. Durch Hochkurbeln von v wird die Luft aus c_1 und c_2 in die Pipetten übergetrieben. Dabei sind die oberen Schwanzhähne der Pipetten zuerst so zu stellen, daß durch sie hindurch ein Teil der Luft aus e_1 und e_2 ins Freie entweicht, dann erst, nachdem so die Hähne durchgespült sind, wird die Luft in die Pipetten zur Analyse hinübergedrückt.

Die Gasanalyse.

Die Genauigkeit der Verfahren nach *Jaquets* Prinzip hängt in aller erster Linie ab von der Verfeinerung der Gasanalyse. Da weitere Fehlerquellen nicht in Betracht kommen, ist der prozentuale Fehler der Gasanalyse auch der der Methodik. Die von *Pettersson* zuerst nur für die Kohlensäurebestimmung der Luft angegebene Methode ist durch *Pettersson*, *Högland* und *Tobiesen*[1]) auch für die Sauerstoffbestimmung so außerordentlich verfeinert worden, daß nun ein Verfahren vorliegt, das an Feinheit und Genauigkeit der analytischen Methode kaum seines Gleichen hat.

Prinzip: Bei einem bestimmten Luftvolumen wird der CO_2-Gehalt durch Abnahme des Volumens durch Absorption mit Kalilauge, der O_2-Gehalt in gleicher Weise nach Absorption durch Pyrogallol bestimmt. Da das Luftvolumen zu Anfang der Analyse durch ein feines Differentialmanometer mit einem gleich großen Luftvolumen in Verbindung gebracht wird, unterliegt dieses den gleichen Temperatur- und Druckschwankungen

[1]) Vgl. *O. Pettersson* und *A. Palmqvist*, Apparat zur Bestimmung des atmosphärischen CO_2-Gehaltes. Forschungen a. d. Gebiete der Agrikulturphysik. Bd. XVI. H. 1—2. — *Tobiesen*, Skandin. Arch. f. Physiol. Bd. 6. S. 257 (1895). Auch persönliche, nicht genau veröffentlichte Angaben von *Pettersson* und *Bohr* sind bei der Konstruktion des Apparates benutzt.

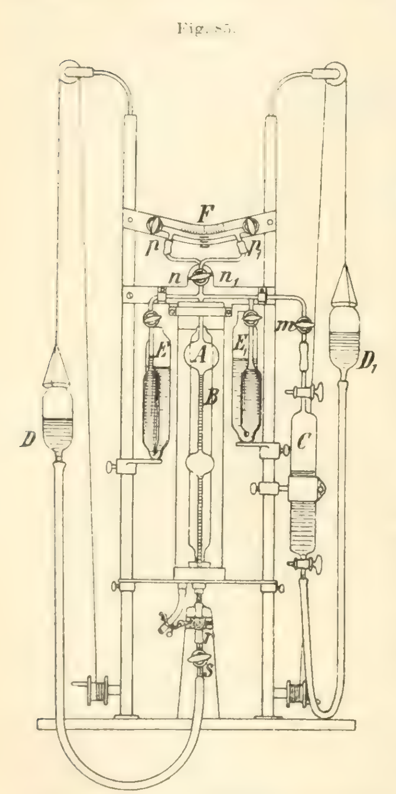
wie die zu analysierende Luft, daher kann man alle Schwankungen von Druck und Temperatur vernachlässigen, wenn man zu Ende der Analyse die Drucke in beiden Luftvolumina durch Einstellung des Differentialmanometers auf den Punkt zu Anfang der Analyse ausgleicht. Betrug das zu analysierende Luftvolumen z. B. 100 *cm*³, so geben die abgelesenen Werte für die Abnahme durch Absorption von Kohlensäure und Sauerstoff direkt den Prozentgehalt der zu analysierenden Luft an diesen beiden Gasen an.

Beschreibung des Gasanalyseapparates und seiner Handhabung.

Die Originalform, wie sie *Jaquet* zuerst mitgeteilt hat, ist in Fig. 85 abgebildet.

In der Mitte des an ein Holz- oder Eisengerüst montierten Glasapparates befindet sich die Maßpipette *A*, die von einer 0-Marke unten bis zum obersten Ende (Marke 100) genau 60 *cm*³ mißt.

Fig. 85.



Gasanalyse Apparat nach *Petterson-Hogland-Tobiesen* zur Analyse der nach dem *Jaquet*schen Prinzipe entnommenen Teilluftstrome. (Genaue Beschreibung der Apparatur und Methodik im Text.)

Die Kalibrierung ist in $^1/_{000}$% vorgenommen, und zwar so, daß nicht etwa ein Skalenteil = 0·01 *cm*³ entspricht, sondern einem $^1/_{000}$% des Gesamtvolumens, um die Umrechnung von 60 *cm*³ auf 100 *cm*³ zu umgehen. Die Kalibrierung ist nur in einzelnen Stellen des Rohres angebracht, von 0—1%, ferner von 20—21·5%. Oberhalb der graduierten Stellen erweitert sich die Pipette kugelförmig, um zu verhindern, daß die Pipette nicht allzu lang wird.

Die Meßpipette hat 5 Verbindungen, zunächst eine nach unten. Dort ist über das untere Ende ein Gummischlauch gezogen, in den bei *s* ein Glasstück mit Hahn eingeschaltet ist. Der Gummischlauch führt zu der mit Quecksilber gefüllten Glaskugel *D*, welche durch Drehung des über eine Spule laufenden Aufhängedrahtes auf und nieder bewegt werden kann.

Nach den beiden Seiten steht die Pipette oben durch feine Glaskapillarrohre in Verbindung mit den *Orsat*schen Gefäßen *E* und E_1, welche die Absorptionslösungen enthalten. Der Zugang zu den Gefäßen läßt sich durch einen Glashahn sperren. Die Glaspipette hat ferner eine direkte Verbindung nach oben, die auch wieder durch einen Glashahn *(n')* unterbrochen werden kann. Mittelst eines kurzen Gummistückes *p* ist das nach der Seite umbiegende Rohr an das Indexglasrohr *F* angeschaltet. Die gebogene

Form mit ihrer Graduierung, die übrigens beliebig gewählt werden kann, ist in Fig. 85 deutlich zu sehen. F hat jederseits 2 Verbindungen, eine nach unten (bei p und p_1), ferner eine horizontale, durch einen Glashahn verschließbare nach außen. Auch F ist ein feines Kapillarrohr und wird mit einem etwa 1 *cm* langen Tropfen einer Lösung von Alkannawurzeln in Petroleum durch eine fein ausgezogene Glaskapillare von der Seite gefüllt. Dieser Tropfen stellt das Indexmanometer dar, weil er die beiden Luftvolumina A und B (das Kontrolluftvolumen) trennt. Die Verbindung von p mit B ist in der Figur nur angedeutet, sie geht ähnlich wie bei p^1 durch ein Gummischaltstück p, an das ein nach unten gebogenes Kapillarrohr ansetzt. Dieses erweitert sich hinter dem Hahne n, der n_1 genau entspricht, zu der länglich gestreckten Glaspipette B. Um während der Analyse die Gasvolumina den Schwankungen der umgebenden Luft möglichst zu entziehen, stehen beide Pipetten in einem mit Wasser gefüllten Glaszylinder, der sich (links unten) durch einen Gummischlauch mit Quetschhahn entleeren läßt.

Die fünfte Verbindung von A führt nach dem Schwanzhahne m, der die Kommunikation mit der Außenwelt darstellt. Unterhalb von ihm wird das Gefäß mit der zu analysierenden Luft in der aus Fig. 85 ohne weiteres ersichtlichen Art anmontiert.

Der Gang einer Analyse ist folgender: Ehe eine Analyse begonnen wird, muß man sich davon überzeugen, daß ein kleiner Tropfen destillierten Wasser auf dem Quecksilber schwimmt. Er wird durch Einsaugen beim m leicht in den Apparat befördert. Die Voraussetzung für gute Analysen ist eine Sättigung der Luft mit Wasserdampf[1], die nur auf die angegebene Weise garantiert ist. Gewöhnlich genügt ein derartiger Tropfen für viele Dutzend Analysen. Die Quecksilberkugel D_1 wird so weit gehoben, daß das Quecksilber an dem unteren, senkrecht stehenden Schwanzhahn des Analysengefäßes C ausfließt. Dann wird der Hahn vertikal gestellt, so daß das Quecksilber nach C einströmen kann. Um stets einen Überdruck zu schaffen, muß man dafür Sorge tragen, daß das Quecksilberniveau in D_1 stets etwa handbreit über demjenigen in C steht. Zu Beginn der Analyse darf sich in dem Analysenapparat nur Stickstoff befinden und das Quecksilberniveau in A muß durch geeignetes Hochwinden der Kugel D an der Marke 100% stehen.

Die erste Luftportion, welche durch Vertikalstellung des oberen Schwanzhahnes aus C austritt, läßt man durch den zuerst horizontal stehenden Schwanzhahn m nach außen entweichen, um die toten Räume zwischen beiden Hähnen mit der zu analysierenden Luft zu füllen. Dann wird m vertikal gestellt und die Luft tritt unter Überdruck nach A ein, nachdem die Hähne n und n_1, sowie die Hähne zu den *Orsat*schen Gefäßen, in denen die Flüssigkeit in beiden Schenkeln gleich hoch stehen soll, horizontal gestellt sind. Durch langsames Heben von D_1 und Senken von D wird dann unter Über-

[1]) Ist die Luft nicht vollständig mit Wasserdampf gesättigt, so geben die Kohlensäureanalysen zu tiefe und die Sauerstoffanalysen meist zu hohe Werte.

druck so viel Luft aus C übergetrieben, daß das Quecksilber einige Zentimeter unterhalb der 0-Marke steht. Dann werden die Schwanzhähne bei C halbgestellt, so daß weder C noch die Ansatzglasstücke nach außen kommunizieren. Durch geeignete Stellung von m läßt man dann den Überdruck in A nach außen sich ausgleichen. Gleichzeitig wird der vorher vertikal stehende Hahn s horizontal gestellt und vermittelst der Schraube r, welche mit einer kleinen Metallscheibe das Lumen des an dieser Stelle in die Leitung eingeschaltenen Gummischlauches verengern und erweitern kann, der obere Quecksilbermeniskus genau auf Marke 0 der Skala eingestellt. Für einige Sekunden werden dann zur Erzielung eines völligen Druckausgleiches sämtliche Hähne des Apparates außer s geöffnet und dann außer denen zum Indexmanometer (n und n_1) geschlossen. Durch Hin- und Herdrehen der Schraube r überzeugt man sich, daß der Alkannatropfen in F den leichtesten Bewegungen der Schraube r folgt, ein Beweis, daß keinerlei Verstopfung der feinen Kapillarrohre oder Hähne eingetreten ist. Die Stellung des Alkannatropfens bei exakter 0-Stellung des Quecksilbers ist genau zu notieren und die eigentliche Analyse kann nach Horizontalstellung von n_1 und n beginnen.

Die Luft wird durch Hochkurbeln von D und daran schließende Öffnung der Hähne s und desjenigen bei E zunächst nach E übergetrieben. Das *Orsat*sche Gefäß (E) ist mit 30%iger Kalilauge (Kaliumhydroxyd in Stangen, purissimum, pro analysi, non in alkoh. depuratum *Merck*) gefüllt und entnimmt der zu analysierenden Luft die Kohlensäure. Wenn durch vorsichtiges Hochheben von D das Quecksilber bei Marke 100 angekommen ist, wird die Kugel wieder gesenkt, wobei streng darauf zu achten ist, daß die Kalilauge in E nie bis in die Nähe des Hahnes kommt. Überhaupt empfiehlt es sich, zumal für den Anfänger, alle Druckschwankungen (besonders nach der negativen Seite) in dem Glasrohrensystem nie brüsk, sondern nur ganz allmählich und behutsam unter steter Kontrolle der Flüssigkeitsspiegel zu setzen, sonst wird zu leicht Flüssigkeit nach A aspiriert, was jedesmal den Verlust der Analyse und eine sehr umständliche Reinigung des ganzen Apparates nötig macht. Sobald die Gefahr einer Aspiration droht, ist sofort der Hahn zum *Orsat*schen Gefäße, eventuell auch s quer zu stellen.

Nachdem die Luft 4mal nach E hinüber getrieben worden ist, wird D vorsichtig so weit gesenkt, daß die Flüssigkeitsspiegel in den beiden Schenkeln des *Orsat*schen Gefäßes wie zu Anfang der Analyse gleich hoch stehen, dann wird die Verbindung gesperrt und s sogleich quer gestellt. Um den Prozentgehalt der Kohlensäure genau abzulesen, ist nun noch nötig, eventuelle Druckdifferenzen zwischen A und dem den gleichen Temperatur- und Druckschwankungen unterlegenen Luftvolumen in B[1]) auszugleichen. Dies geschieht durch ganz vorsichtiges Öffnen der Hähne n und n_1. Sobald ein stärkerer Ausschlag am Alkannatropfen sich zeigt, wird die Schraube r so gedreht, daß der Tropfen wieder nach der Anfangslage geschoben wird. Erst wenn

[1]) Auch in B muß durch Einbringen eines Tropfens destillierten Wassers bei n stets die Luft mit Wasserdampf gesättigt sein.

der Druck nahezu ganz ausgeglichen ist, werden die Hähne n und n_1 maximal geöffnet und dann der Alkannatropfen endgültig auf den Ausgangspunkt eingestellt. Der Skalenteil, an dem dann der obere Quecksilbermeniskus steht, gibt dann den Prozentgehalt der Luft an CO_2 an. Zur Ablesung bedient man sich zweckmäßig der Lupe und seitlichen Beleuchtung. Vor allem ist darauf zu achten, daß Pupille, Achse der Linse und Quecksilbermeniskus genau eine gerade Linie bilden, da von der Genauigkeit der Ablesung die Exaktheit der Methode abhängt.

Ist die Ablesung beendet und bekommt man eventuell nach erneutem Herübertreiben der Luft nach E den gleichen Wert, so werden die Hähne n und n_1 wieder geschlossen und es wird in genau der gleichen Weise die Sauerstoffbestimmung vorgenommen, indem die Luft nach E_1 herübergetrieben wird. Nach *Haldane*scher Vorschrift wird dies Gefäß am besten mit 10%iger Pyrogallollösung in konzentrierter reinster Kalilauge gefüllt. Am zweckmäßigsten wird die Pyrogallussäure in die noch warme Kalilauge in Substanz hineingebracht und, ehe sie sich ganz gelöst hat, in das *Orsat*sche Gefäß eingefüllt.

Die Ablesung des Sauerstoffgehaltes der zu analysierenden Luft geschieht in genau der gleichen Weise wie bei der Kohlensäure. Nun ist es bei der viel größeren Menge Sauerstoff und geringeren Avidität der Pyrogallollösung für das Gas nötig, die Luft mindestens 8mal hinüber und herüber zu treiben. Die Häufigkeit hängt ab von der Leistungsfähigkeit der Pyrogallollösung, die bei stets gleicher Bereitung außerordentlich großen Schwankungen unterliegt. Manchmal ist schon nach wenigen Minuten die Absorption eine vollkommene, hin und wieder, wenn die Lösungen schon etwas verbraucht sind, dauert es bis zu einer $^3/_4$ Stunde.

Um sich davon zu überzeugen, daß die Absorption wirklich eine quantitative ist, macht man 2 Ablesungen, nachdem man zwischen beiden die Luft noch einmal in beide *Orsat*sche Gefäße übergetrieben hat. Beide Ablesungen müssen vollkommen übereinstimmen.

Nach Beendigung der Sauerstoffablesung ist der Apparat nur noch mit Stickstoff gefüllt und ist bereit für eine zweite Analyse. Es ist notwendig, immer zwei Analysen derselben Luft vorzunehmen, um eine Sicherheit für die Genauigkeit der Resultate zu haben. Sollten die Werte der Doppelanalysen mehr wie 0·01% differieren, so muß eine dritte Analyse gemacht werden, bei exaktem Arbeiten wird dies aber nur selten nötig sein.

Die Abänderungen, die *Grafe* und *Stähelin* an dem beschriebenen Apparat vorgenommen haben, sind sehr geringfügig. *Stähelin* nahm eine Pipette von 50 cm^3, *Grafe* eine solche von 100 cm^3. Sehr zweckmäßig ist es, die *Orsat*schen Gefäße abnehmbar am Apparate anzubringen. Die Verbindung mit den Kapillarrohren muß dann selbstverständlich vollkommen luftdicht sein, was durch Anbringung eines schrägen langen Glasschliffes mit Bajonettverschluß und Quecksilberabdichtung sich leicht erreichen läßt. Ferner empfiehlt es sich auch, die *Orsat*schen Gefäße in große Glaszylin-

der zu stellen, um sie dem Einfluß der wechselnden Lufttemperatur möglichst zu entziehen *(Grafe)*.

Die Erlernung der Technik der Analyse ist nicht ganz einfach und erfordert viel Sorgfalt und Übung. Die Hauptfehler bestehen darin, daß durch unrichtige Handhabung der Quecksilberkugel oder der Hähne und Schrauben zu große Druckdifferenzen in den einzelnen Teilen des Apparates entstehen und infolgedessen entweder der Alkannatropfen zerspringt oder Flüssigkeit aus den *Orsat*schen Gefäßen in den Apparat kommt. In beiden Fällen ist natürlich die Analyse unbrauchbar. Im letzteren Falle muß der Apparat gründlich gereinigt werden, indem man in alle Teile erst 20%ige Salpetersäure, dann 5%ige Salpetersäure und schließlich 1—2mal destilliertes Wasser hereinbringt. Am besten geschieht dies durch Ansaugen mit dem Quecksilber der Pipette.[1])

In der Hand des Geübten arbeitet die Methode mit einer kaum überbietbaren Feinheit und Exaktheit, und es kommt häufig vor, daß Serien von Doppelanalysen bis auf 0·001% übereinstimmen.

Für jeden Untersuchungsort ist die Frage nach der Zusammensetzung der atmosphärischen Luft zu entscheiden, da überall da, wo die Zusammensetzung der Luft in längeren Zeiträumen außerhalb der Fehlergrenzen der Methode schwankt, während jedes Versuchs eine Paralleluntersuchung der atmosphärischen Luft vorgenommen werden muß.

Am besten geschieht das in der von *Stähelin* vorgeschlagenen Weise, indem genau parallel mit der Probe des Abstroms auch eine Probe des Einstroms entnommen wird.

Von der Zusammensetzung der atmosphärischen Luft überzeugt man sich am besten dadurch, daß man zu den verschiedensten Tages- und Jahreszeiten zahlreiche Proben der atmosphärischen Luft untersucht und die Werte vergleicht. Liegen die Maximalwerte weiter wie 0·010—0·015 auseinander, so müssen stets Parallelproben der atmosphärischen Luft während des Versuches abgesaugt werden. Am günstigsten liegen die Verhältnisse am Meer und am Ufer großer Flüsse in Städten mit wenigen Fabriken, am ungünstigsten im Zentrum großer Millionenstädte.[2])

Die Wasserdampfbestimmung.

Auch der Wasserdampf läßt sich in Apparaten nach dem *Jaquet*schen Prinzipe bestimmen. Es führen hier die verschiedensten Methoden zum

[1]) Trotz sorgfältigster Reinlichkeit der Analysenausführung läßt es sich manchmal nicht verhindern, daß feinste Rußteilchen und Spuren von Fett der Hähne an der Wand der Kapillaren sich innen ansetzen. Meßbare Fehler entstehen dadurch nicht, trotzdem ist es aber ratsam, in solchen Fällen die Röhren mit Kaliumbichromat und konzentrierter Schwefelsäure zu reinigen.

[2]) So kann z. B. nach *Stähelin*s Angaben im Areal der Charité der CO_2-Gehalt zeitweise bis 0·12% hinaufgehen, während die Werte für Heidelberg nur zwischen 0·0325—0·04 schwanken. Die Werte für den Sauerstoff sind gewöhnlich auch sehr konstant für den einzelnen Ort. Die weitesten Grenzen, in denen die Zahlen an den verschiedensten Orten schwanken können, sind 20·90—20·94%.

Ziele, wenn auch leider, wie schon im voraus bemerkt werden soll, die Genauigkeit der Wasserdampfbestimmung, wie bei allen besprochenen Apparaten, erheblich hinter der Exaktheit der Analyse von CO_2 und O_2 zurücksteht. *Jaquet* selbst hatte keine derartige Vorrichtung an seinem Apparate angebracht, jedoch hat *Stähelin*[1]) den Basler Apparat für Wasserdampfbestimmung modifiziert.

Er verfuhr in der Weise, daß er die Luft vor dem Eintritt in die Kammer in einer Kühlvorrichtung und einem anschließenden Chlorkalziumturm vollkommen trocknete und eine ähnliche Anlage in den Abstrom direkt hinter der Kammer einschaltete. Die Gewichtszunahme des zweiten Kühlapparates und Chlorkalziumrohres gibt dann direkt die Wasserdampfproduktion der Versuchsperson an. Zur Kondensation des Wasserdampfes wurden spiralig gewundene Messingrohre von 22 *mm* Durchmesser benutzt. Die Höhe eines ganzen Gefäßes betrug 36 *cm*, der Durchmesser 23 *cm*. Die Gefäße kommen in eine Kältemischung (Eis und Kochsalz). Zur Wägung, die bis auf 0·1 *g* genau sein muß, werden die Enden der Gefäße aus ihren Schlauchverbindungen mit der Rohrleitung gelöst und mit Gummistopfen verschlossen.

Die Chlorkalziumtürme (55 *cm* lange Zylinder aus dünnem Glas) waren an der einen Seite zugeschmolzen, auf der anderen durch einen Gummipfropf verschlossen. Durch letzteren ging als zuführendes Rohr ein Glasrohr von 22 *mm* Durchmesser. Ein gleich beschaffenes Glasrohr nahm nahe dem Boden des Gefäßes die trockene Luft wieder auf.

Um jeden stärkeren Widerstand in der Rohrleitung für die Gasuhr zu verhindern, darf zur Füllung der Chlorkalziumtürme nur sehr grobkörniges Chlorkalzium benutzt werden, das häufig erneuert werden muß.

Zur Wasserdampfbestimmung in kürzeren Perioden braucht nur die Anlage hinter der Kammer doppelt gemacht zu werden.

Grafe[2]) verwandte an dem Heidelberger Apparate im wesentlichen das *Pettenkofer*sche Prinzip der Wasserdampfbestimmung in Teilströmen.

Zwei Teilströme werden von dem kurzen, Luft zuführenden Rohre des Apparates zur Bestimmung des H_2O-Gehaltes des Einstroms entnommen, indem die Luft durch ein kurzes Gummistück sofort in 2 hintereinander geschaltete Kölbchen, die mit Bimssteinstückchen, benetzt mit konzentrierter Schwefelsäure (vgl. S. 492), beschickt sind.

Die Kölbchen, welche in einem Drahtkorbe an dem Einstromrohr hängen, sind an der Stirnwand des Apparates mit 2 Blechrohren von ca. 3 *cm* innerem Durchmesser verbunden. Die Blechrohre finden in 2 gleich weiten Gummischläuchen ihre Fortsetzung. Um das Öffnen und Schließen des Apparates nicht zu behindern, müssen die Schläuche ziemlich lang sein (vgl. Fig. 78 *S*).

---

[1]) Die Bestimmung der Wasserdampfausscheidung in Verbindung mit dem *Jaquet*schen Respirationsapparat. Verhandl. d. naturforsch. Gesellsch. in Basel. Bd. 19, H. 1, S. 1 u. ffg.

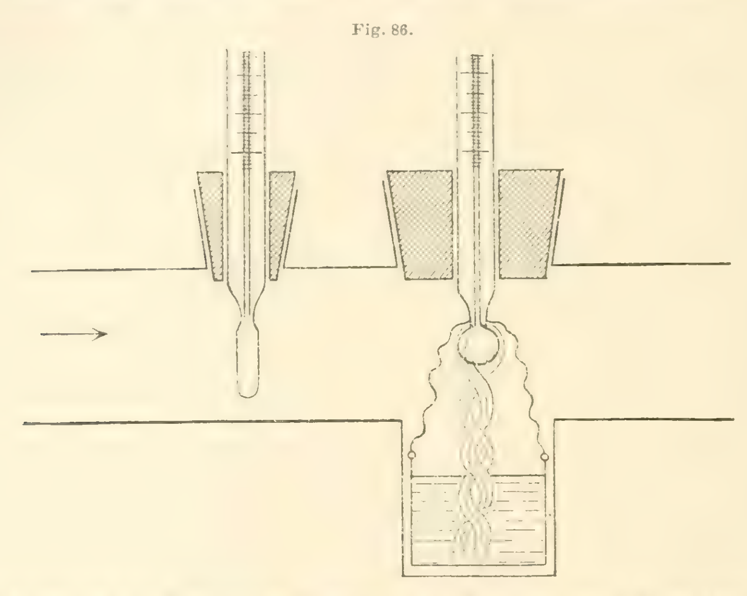
[2]) l. c.

An der anderen Seite schließen die Gummischläuche wieder an feste Blechrohre an, die zu 2 kleinen *Elster*schen Gasuhren führen.

Die Luftproben für den Abstrom werden dem großen Rohre *R* (Fig. 78), welches die Luft aus der Kammer der Gasuhr zuführt, bei *b'* und *b* entnommen. Zwischen *b'* und *c'*, beziehungsweise *b* und *c* werden in analoger Weise wie beim Einstrom 2 Paare Kölbchen mit Schwefelsäure und Bimsstein eingeschaltet (in der Figur nicht gezeichnet) und die getrocknete Luft geht dann durch die Rohre *d'* und *d* zu 2 weiteren kleinen *Elster*schen Gasuhren, welche neben den eben erwähnten Aufstellung finden.

Die Achsen sämtlicher 4 Gasuhren sind durch Zahnräder und Ketten miteinander und mit der Achse der großen Gasuhr verbunden. Da im

Fig. 86.



Die Anordnung der Psychrometer zur Bestimmung der Wasserdampftension in dem Apparate von *Stähelin-Kessner*.

Interesse einer quantitativen Absorption des Wasserdampfes die Ventilation durch die kleinen Gasuhren möglichst gering sein muß, wurde die Übertragung auf die Achse der großen Gasuhr so gewählt, daß bei einer Passage von 188 *l* durch die große Gasuhr nur 1 *l* durch die kleinen hindurchging.

Stähelin[1]) hat an dem von ihm und *Kessner* konstruierten Berliner Apparat die Wasserdampfbestimmung vermittelst der sehr einfachen Psychrometermethode vorgenommen und damit ebenso befriedigende Resultate erhalten, wie sie andere Verfahren ergeben.

Die außerordentliche einfache Einschaltung der Psychrometer in den Ein- und Ausstrom zeigt Fig. 86.

[1]) Vgl. *Stähelin* und *Kessner*, l. c. S. 15.

Zwei sehr feine Thermometer sind vermittelst Gummistopfen und Glasansatz in das Glasrohr der Leitung eingefügt. Das eine ragt frei in das Innere herein, das zweite ist an der Quecksilberkugel mit feuchten Wollfäden umwickelt, die in ein kleines mit Wasser gefülltes Schälchen eintauchen. Dadurch, daß die Schale samt dem Thermometer herausgehoben werden kann, läßt sich stets im Versuch die Menge des aus der Schale verdunsteten Wassers durch Wägung feststellen.

Die Thermometer müssen beide mindestens alle Viertelstunde abgelesen werden, bei starken Barometerschwankungen sind auch häufigere Ablesungen des Barometerstandes notwendig.

In den Psychrometertafeln des königl. preußischen meteorologischen Institutes [1]) findet man für jede Ablesung der Thermometer die entsprechende Wasserdampftension sowie die absolute Feuchtigkeit (*g* Wasser in 1 *m* Luft), die dann nur noch für das auf 0° absolute Trockenheit und 760 *mm* reduzierte Ventilationsvolumen umgerechnet zu werden braucht.

Beschreibung eines Versuches.

Die Versuchsperson, die kurz vorher genau gemessen und gewogen ist und Urin gelassen hat, wird entweder in einem geeigneten Versuchsbett, das möglichst nur aus dünnem Eisen und Leder hergestellt ist und ein ganz geringes Volumen haben soll, in den Apparat eingefahren oder betritt ihn zu Fuß. Je nach der Ventilation des Apparates kann der Versuch sofort beginnen oder erst 2—3 Stunden später. Wenn man, wie *Grafe* es vorschlägt, zur Ventilation die Luft eines kleinen stark und dauernd ventilierten Zimmers nimmt und 1 Stunde, bevor die Versuchsperson in den Kasten kommt, sowohl das Zimmer wie die geschlossene Kammer bei raschestem Gang der Ventilatoren und der Gasuhr ventiliert, kann der Versuch sofort beim Betreten der Kammer beginnen, zumal wenn Öffnen und Schließen der Kammer in wenigen Sekunden möglich ist.

Es ist zweckmäßig, in solchen Fällen den vorher luftdicht geschlossenen Kasten erst nach 1 Stunde zu ventilieren, da die Konzentration der Kohlensäure in der abgesogenen Luft sonst zu langsam steigt; wegen der geringen unvermeidlichen Analysefehler ist aber notwendig, den CO_2-Gehalt des Teilstroms möglichst über 0·5% zu halten.

Der Vorteil, den der sofortige Beginn des Versuches mit sich bringt, besteht darin, daß einige Stunden Vorversuch gespart werden, was besonders bei der Untersuchung Schwerkranker sehr wünschenswert ist. Der Nachteil ist nur, daß man einmal eine Probe der Kastenluft zu Ende des Versuches analysieren muß und zweitens einen Wert für das Volumen der Versuchsperson in Rechnung stellen muß. Die dadurch bedingten Ungenauigkeiten fallen, wie später noch gezeigt werden soll, bei langen Versuchen kaum ins Gewicht. Es empfiehlt sich überhaupt in jedem Falle

[1]) Aspirationspsychrometertafeln, herausgegeben vom königl. preuß. meteorologischen Institut. Braunschweig 1908.

wenn irgend angängig, den Versuch auf mindestens 6 Stunden auszudehnen.

Nach der zweiten Methode, die besonders *Stähelin* bevorzugt, wartet man mit dem Beginne des Versuches so lange, bis der Kohlensäuregehalt der Luft annähernd konstant geworden ist. Bei den größeren Apparaten ist dies nach 2 Stunden der Fall. In diesem Falle kommt man mit einmaliger Analyse der Kammerluft aus, vorausgesetzt wird aber dabei, daß tatsächlich die Konzentration von CO_2 und O_2 im Apparat zu Anfang und Ende des Versuches wirklich ganz die gleiche war. Das exakteste Vorgehen besteht aber zweifellos darin, daß man erst nach 2 Stunden den Versuch beginnt und sowohl zu Anfang wie zu Ende eine Probe der Kastenluft entnimmt. Man hat dann allerdings mindestens 6 Analysen zu machen. Die Ventilationsgröße setzt man je nach Größe der Versuchsperson auf 20—30 *l* pro Minute an. In dem Augenblicke, in dem der eigentliche Versuch beginnt, werden sofort Zeit, Gasuhrstand, Thermometer in der Kammer und an der Gasuhr, ferner Barometer und eventuell auch bei Wasserdampfbestimmungen die Hygrometer notiert. Vorher müssen die oben beschriebenen Behälter zur Absaugung des Teilstromes mit Quecksilber gefüllt sein, so daß es nur noch der Verbindung mit dem Hauptstrom und der Spülung der toten Räume durch Ansaugung mit einem Gebläse bedarf, um den Teilstrom entnehmen zu können. Automatisch läuft dann der Versuch ab. Die Apparatur bedarf dabei keiner besonderen Aufsicht. Nur müssen bei stärkeren Schwankungen von Temperatur und Barometer die entsprechenden Ablesungen 1—2stündig vorgenommen werden, bei Wasserdampfbestimmungen mit der hygrometrischen Methode viertelstündlich.

Will man den Wasserdampf mit der Kölbchenmethode messen, so müssen diese vor dem Versuch, luftdicht verschlossen, gewogen werden und beim Beginne des eigentlichen Versuches in die Leitungsrohre durch die Gummistücke eingeschaltet werden. Alles Weitere ergibt sich aus dem oben Gesagten.

Gleichzeitig mit dem Stand der großen Gasuhr muß auch der der 4 kleinen abgelesen werden, ebenso wie die Temperatur in ihnen.

Eine Überwachung der Versuchsperson ist nicht immer unbedingt notwendig, in den meisten Fällen aber, zumal bei Kranken, wünschenswert, vor allem auch wegen der Frage der Motilität, des Schlafes etc., die für die Beurteilung der quantitativen Verhältnisse des Gaswechsels von Bedeutung sein kann.

Etwa $^3/_4$ Stunden vor Beendigung des Versuches, eventuell auch auf Wunsch der Versuchspersonen schon früher, wird der Deckenventilator des Apparates in Tätigkeit gesetzt. Der Versuch schließt im allgemeinen dann, wenn ein Gefäß zur Teilstromentnahme mit Luft gefüllt ist, doch ist es auch möglich, ihn früher abzubrechen, wenn schon für die Gasanalysen genügend Luft abgesaugt ist. Bei Beendigung des Versuches wird der Elektromotor der Gasuhr abgestellt und sofort Zeit, Temperatur, Barometer und Stand der Gasuhr abgelesen.

In den Fällen, in denen der Versuch sofort beim Schließen der Kammer angefangen hat, ist es notwendig, noch eine Probe aus dem Kasten zu entnehmen. Dies kann entweder direkt durch Ansaugung der Luft durch ein Leitungsrohr, welches die Wand der Kammer durchbohrt, geschehen, oder man saugt eine Probe aus dem großen Abstromrohr *E* ab, dessen Luft bei guter Ventilation der Kammer vollkommen die gleiche Zusammensetzung hat wie die Luft in dieser selbst.

Bei dem Apparate von *Stähelin* und *Kessner* fällt die Mischung der Luft mit dem Ventilator fort, da durch die oben (S. 502 u. ff.) beschriebene Vorrichtung eine gute Mischung der Kammerluft garantiert wird.

Ein Teil der abgesogenen Luft wird dann in der oben beschriebenen Art in die Analysegefäße übergefüllt und gasanalytisch untersucht. In der beschriebenen Weise kann man auch den Ablauf der Verbrennungen in zwei- und mehrstündigen Perioden verfolgen. Es ist zu diesem Zwecke nur nötig, die Übertragung am Teilstromapparat so zu wählen, daß das Quecksilbergefäß schon nach 2 oder 3 Stunden leer gelaufen ist. Am Schlusse jeder Einzelperiode muß dann stets eine Probe aus dem vorher gut ventilierten Kasten entnommen werden.

Bei Wasserdampfbestimmungen nach der Kölbchenmethode müssen auch die kleinen Gasuhren sowie deren Temperaturen bei Beendigung der Versuche abgelesen und die Kölbchen luftdicht verschlossen wie vorher gewogen werden.

Die Berechnung der Versuche.

Durch die gasanalytische Untersuchung der Teilstromluft ist der Prozentgehalt der Einstrom- und Ausstromluft für CO_2 und O_2 bekannt.

Um die absoluten Werte zu erhalten, ist es notwendig, das an der Gasuhr abgelesene Luftvolumen, welches während des eigentlichen Versuches die Kammer passiert hat, auf die Normalwerte von 0°, 760 *mm* Hg und absolute Trockenheit zu reduzieren.

Die Durchschnittswerte für Druck und Temperatur während des Versuches sind durch fortlaufende Ablesungen bekannt. Bei Verwendung einer großen mit Wasser gefüllten Gasuhr und langsamer Ventilation ist die Luft praktisch mit Wasserdampf gesättigt, bei Füllung mit Paraffinöl muß der Wassergehalt durch Hygrometerablesung jedesmal gesondert festgestellt werden. Die Reduktion des von der Gasuhr angezeigten Luftvolumens auf 0°, 760 *mm* und Trockenheit geschieht nach der bekannten Formel:

$$V_0 = \frac{V \times b_0 - e}{1 + 0{\cdot}00367\,t \times 760}$$

wo V das abgelesene Volumen, t die abgelesene Temperatur, b_0 der auf 0° reduzierte Barometerstand[1]) und e die Wasserdampftension angeben.

[1]) Die Korrektur für den Barometerstand fällt je nachdem ein Metall- oder Quecksilberbarometer benützt wird, etwas anders aus (vgl. *Börnstein-Landolt*, [illegible] 10 u. 11, II. Aufl.), ferner ist noch eine kleine Korrektur für den Längengrad des betreffenden Untersuchungsortes anzugeben: Für Heidelberg = + 0·32 *mm*.

Mit Hilfe der *Landolt-Börnstein*schen Tabellen (II. Aufl., Tab. 8 u. ff.) ist die Reduktion leicht vorzunehmen. $\frac{V_0 \times (a^0/_0 - b^0/_0)\, CO_2}{100}$ gibt sofort die während des Versuches gebildete Menge Kohlensäure an, wenn a den Prozentgehalt des Ausstroms, b den der atmosphärischen Luft bezeichnet. Durch Anbringung des von *Zuntz* angegebenen Thermobarographen[1]) an der Gasuhr, die dann aber nur mit Wasser gefüllt sein darf, läßt sich die Rechnung vereinfachen, da statt Thermometer und Barometer nur dies Instrument abgelesen zu werden braucht. Bezüglich der Beschreibung und Berechnung verweise ich auf die eingehende Darstellung von *M. Müller* in Bd. III, S. 581 und 610 dieses Handbuches.

Die Berechnung für den Sauerstoffverbrauch muß indirekt vorgenommen werden, da das Volumen des aufgenommenen Sauerstoffs und der ausgeschiedenen Kohlensäure nicht genau das gleiche ist, und geht davon aus, daß die zugeführte und die abgeführte Luft genau die gleiche Menge N enthält, weil mit voller Sicherheit bekannt ist, daß der tierische Organismus den atmosphärischen Stickstoff nicht verwenden kann.

Den Gang der Berechnung[2]) zeigt am besten folgendes Beispiel:

Gehalt der atmosphärischen Luft . .	$CO_2 = 0{\cdot}036^0/_0$ $O_2 = 20{\cdot}90\ ^0/_0$ $N = 79{\cdot}064^0/_0$
„ des Abstromes . . . . . . $V_0 = 2439\ l$	$CO_2 = 1{\cdot}008^0/_0$ $O_2 = 19{\cdot}852^0/_0$ $N = 79{\cdot}14\ ^0/_0$

Der CO_2-Verbrauch betrug also $\frac{2439 \times (1{\cdot}008 - 0{\cdot}036)}{100} = 23{\cdot}707\ l$.

Der N-Gehalt des Abstroms war also $\frac{2439 \times 79{\cdot}14\ l}{100}$. Da kein N verbraucht worden ist und $\frac{O_2}{N}$ in der atmosphärischen Luft sich wie $\frac{20{\cdot}90}{79{\cdot}064}$ verhalten, enthielten $2439\ l$ mit einem N-Gehalt von $79{\cdot}14^0/_0$ ursprünglich $\frac{2439 \times 79{\cdot}14 \times 20{\cdot}90}{100 \times 79{\cdot}064}\ O_2 = 510{\cdot}24\ l\ O_2$. Der O_2-Gehalt von V_0 betrug aber $19{\cdot}852^0/_0$, so daß in $2439\ l$ $\frac{2439 \cdot 19{\cdot}852}{100} = 484{\cdot}18\ l\ O_2$ enthalten sind.

$$\begin{array}{r} 510{\cdot}24 \\ -\ 484{\cdot}48 \\ \hline \end{array}$$

$26{\cdot}06\ l$ ist also der Sauerstoffverbrauch während des Versuches. R Q mithin $= \frac{23{\cdot}707}{26{\cdot}06} = 0{\cdot}9097$.

---

[1]) *Magnus-Levy, Pflügers* Arch. Bd. 55. S. 1.

[2]) Die Ausrechnung wird am besten mit vier- oder fünfstelligen Logarithmen ausgeführt.

Die Berechnung der Wasserdampfabgabe nach der Kölbchenmethode ist prinzipiell die gleiche wie beim *Pettenkofer*schen Apparat (vgl. S. 491 u. ff.).

Braucht man Chlorkalktürme, die sämtlichen Wasserdampf absorbieren, so entspricht deren Gewichtszunahme direkt der Menge des im Versuch gebildeten Wassers. Bei Anwendung von Hygrometern muß für jede der viertelstündlichen Ablesungen die entsprechende Wasserdampftension bestimmt werden.[1])

Bei Temperaturen um 16° ist die Tension annähernd gleich der absoluten Feuchtigkeit (*g* Wasser in 1 m^3 Luft). Sonst muß mit Hilfe der gleichen Tafeln (S. 90) aus der Tension die absolute Feuchtigkeit erst berechnet und bei einem von 755 *mm* weit abweichenden Barometerstande eine entsprechende Korrektur (Tab. S. 84) angebracht werden.

Bei gleichmäßigem Gang der Gasuhr und nicht zu großen Schwankungen der Temperatur, des Barometers und des Feuchtigkeitsgehaltes genügt es gewöhnlich, den Mittelwert der Einzelablesungen für die absolute Feuchtigkeit in Ein- und Ausstrom zu nehmen.

Die Differenz multipliziert mit der Anzahl Kubikmeter, welche während des Versuches durch die Gasuhr gingen, ergibt die Menge des im Versuch gebildeten Wasserdampfes.

Wenn man bei kürzer dauernden Versuchen das Volumen des Apparates in Rechnung setzt, so muß eine besondere Korrektur für den Raum, welchen die Versuchsperson einnimmt, angebracht werden.

Da das spezifische Gewicht des Menschen annähernd = 1 ist, geschieht die Korrektur, indem man annimmt, daß die Versuchsperson ebensoviel Liter Raum einnimmt, als sie Kilogramm schwer ist. Die Werte fallen dabei etwas zu groß aus, was aber darum keinen besonderen Fehler bedeutet, weil das Volumen des Bettes und der Bekleidung sonst meist nicht berücksichtigt wird. Je länger der Versuch dauert, um so weniger fällt die geringe Ungenauigkeit einer derartigen Berechnung ins Gewicht.

Kritik der Methode nach *Jaquet*.

Auf Grund der von den einzelnen Autoren angestellten Kontrollverbrennungen mit Spiritus oder Paraffinkerzen ergeben sich folgende maximale Fehler für die Apparate: *Jaquet*scher Originalapparat (maximal 5%, für CO_2 und O_2). *Grafe*s Apparat für CO_2 — 1·41%, für O_2 + 1·22%. *Stähelin*s Apparat (maximal 2%): im allgemeinen fielen die Resultate für die Kohlensäure günstiger aus als für den Sauerstoff. Weniger genau ist ähnlich wie beim *Pettenkofer*schen Apparat die Wasserdampfbestimmung, da hier bei allen Apparaten Fehler bis zu 5% vorkommen können.

Der große Vorteil der Methodik nach *Jaquet* besteht darin, daß die Methode gestattet, die Versuche sowohl über kurze wie über lange Zeiträume auszudehnen. Bei Anwendung eines geeigneten Kopfkastens kann man sogar Versuche von halbstündiger Dauer vernehmen.

[1]) Am zweckmäßigsten in den Aspirations-Psychrometertafeln, herausgegeben vom kgl. preuß. meteorolog. Institut (Braunschweig 1908).

Statt der großen Respirationskammer oder des Kopfkastens kann auch sehr einfacher Weise ein Tierkasten eingeschaltet werden, wie es sowohl bei dem Baseler[1]) wie dem Heidelberger[2]) und Berliner Apparat[3]) geschehen ist.

Somit lassen sich ohne Schwierigkeit die Apparate nach *Jaquet* zu einer Universalrespirationsmethodik verwerten. Die Anschaffungskosten sind verhältnismäßig gering[4]) und die Bedienung der Apparate außerordentlich einfach und mühelos.[5]) Schwierigkeiten macht im Anfang nur die exakte Gasanalyse.

Der Haupteinwand, der sich gegen die *Jaquet*sche wie gegen alle Teilstrommethoden machen läßt, ist der, daß eben nur ein kleiner Teil der Luft untersucht wird und demgemäß die Analysenwerte mit oft mehr als 2000 multipliziert werden müssen, etwaige Fehler können so auch außerordentlich vergrößert werden.

Ferner kann man einwenden, daß die Berechnung des Sauerstoffes eine indirekte ist und daß etwaige Fehler der Kohlensäurebestimmung auch die Genauigkeit der Sauerstoffbestimmung beeinflussen müssen, so daß bei der Bestimmung dieses für den Gesamtstoff und Kraftwechsel besonders wichtigen Gases doppelte Fehlerquellen möglich seien. Schließlich fällt, je kleiner das Sauerstoffdefizit ist, um so mehr der unvermeidliche mittlere Fehler der Gasanalyse von 0·005% ins Gewicht. Das Sauerstoffdefizit ist aber nach oben begrenzt dadurch, daß die Kohlensäurekonzentration 2% nicht übersteigen darf.

Die praktische Brauchbarkeit und Genauigkeit der Apparate zeigt jedoch, daß alle diese Bedenken praktisch bei sorgfältigster Versuchs- und vor allem Analysentechnik keine nennenswerte Bedeutung haben.

Allerdings sind in der Regel die Fehler für die Sauerstoffbestimmung größer wie für die Kohlensäurebestimmung.

Apparate nach dem Prinzipe von Regnault und Reiset.

Der oben eingehend beschriebene neue Respirationsapparat von *Benedict* läßt sich auch für langdauernde Versuche einrichten.[6]) Sehr gut eignet sich dafür auch die *Rolly*sche Modifikation. Es ist nur notwendig, an der Stelle, an welcher die Verbindung für die Versuchsperson angebracht ist,

[1]) *Falta*, *Grote* und *Stähelin* *Hofmeisters* Beiträge, Bd. 9.

[2]) *Grafe* und *Graham*. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 73. S. 7 (1911).

[3]) *Stähelin* und *Kessner*, l. c. S. 10.

[4]) Die Kosten des Heidelberger Apparates inklusive großer Gasuhr (ohne die kleinen Gasuhren) betragen zirka 3600 M, der von *Stähelin* und *Kessner* konstruierte Apparat kostete nach liebenswürdiger Mitteilung von Herrn Professor *Stähelin* und Herrn Ingenieur *A. Kessner* zirka 4500 M, davon entfielen zirka 1500 M auf die Kammer, 280 M auf die Antriebsvorrichtung der Gasuhr, zirka 350 M auf die Gasabsaugevorrichtung.

[5]) Mit dem Heidelberger Apparate sind z. B. im Verlaufe von 3 Jahren über 600 Tier- und Menschenversuche von 4—48stündiger Dauer ausgeführt worden.

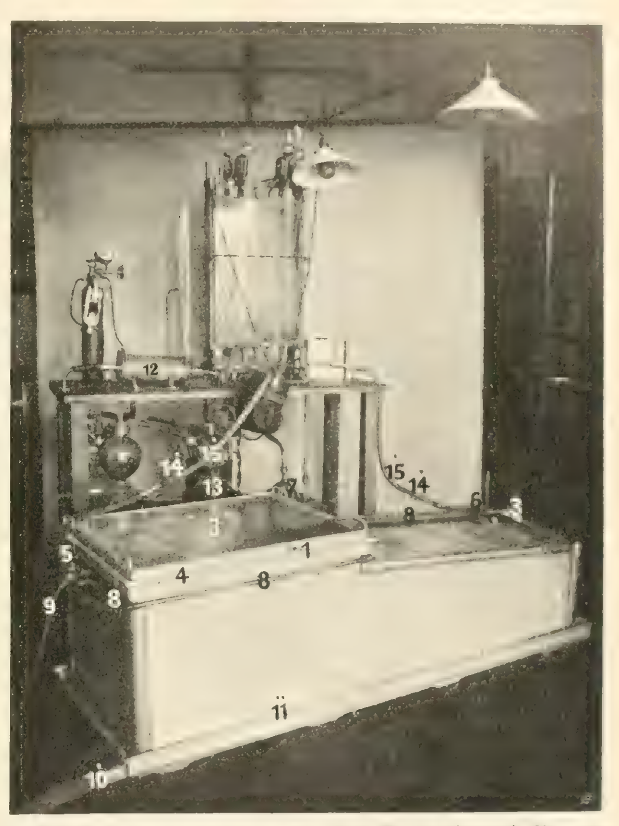
[6]) *Benedict* selbst standen für diesen Zweck die großen Apparate nach dem ursprünglichen Prinzip von *Atwater-Rosa* und *Benedict* zur Verfügung, als deren Verkleinerung gerade der neue Apparat für kurzdauernde Versuche zu betrachten ist.

eine vollkommen luftdicht schließende Respirationskammer von möglichst kleinen Dimensionen einzuschalten. Ferner müssen wegen der längeren Versuchsdauer größere Absorptionsgefäße benutzt werden, deren Einschaltung aber keinerlei Schwierigkeiten machen können.

Bei Beendigung des Versuches muß die Zusammensetzung der Kammerluft entweder gasanalytisch ermittelt werden, oder die Versuchsperson atmet dann durch einen Gummischlauch nach außen, bis alle noch vorhandene Kohlensäure durch die Natronkalkflaschen absorbiert worden ist und der Anfangsdruck im Apparate wieder hergestellt ist. Ferner müssen Volumen, Druck und Temperaturen des Apparates genau bekannt sein.

Rolly hat vor kurzem eine den ganzen Menschen aufnehmende Kammer für den früher beschriebenen Apparat nach dem *Benedict*schen Prinzipe konstruiert.

Fig. 87.



Ansicht der Respirationskammer von *Rolly* für langdauernde Versuche. Der Kasten in das auf S. 460 u. ff. beschriebene Respirationssystem eingeschaltet. Ein Patient *(3)* liegt im Kasten. (Weitere Zahlenerklärungen im Text.)

Die genauere Beschreibung ist noch nicht erschienen [1]), jedoch hatte Herr Professor *Rolly*-Leipzig die große Liebenswürdigkeit, mir für dies Handbuch die folgende kurze Beschreibung nebst Abbildung (Fig. 87) und Schema der Berechnung der Versuche zur Verfügung zu stellen.

Der Menschenkasten, welcher wie der Tierkasten aus Zinkblech gebaut ist, ist 161 *cm* lang, 61 *cm* breit, am Kopfende 56 *cm* und am

[1]) Sie soll in einer demnächst bei *G. Fischer* erscheinenden Monographie mitgeteilt werden. Nach einer liebenswürdigen Mitteilung von Herrn Professor *Rolly*-Leipzig beträgt der Anschaffungspreis der kompletten Kammer (natürlich exkl. der übrigen Apparatur) ca. 350 M.

Fußende 39 *cm* hoch. Das Volumen desselben wird wie bei dem Tierkasten berechnet und beläuft sich auf 588·7 *l*.

Im Innern des Kastens ist über dem Fußboden, auf seitlichen Leisten eine Anzahl fester Gurte ausgespannt, auf welchen der Patient weich und bequem liegt. Unter dem Kopf des Patienten befindet sich ein ledernes Kissen und am Fußende ist in einem Schutzgitter ein elektrisch betriebener Ventilator angebracht, welcher die Luft in dem Kasten mischt. Die Zuleitung der Elektrizität geschieht durch eine in einer Paraffinrinne in das Kasteninnere von außen herlaufende Schnur (Fig. 87).

Drei Thermometer, von welchen das eine in der Abbildung sichtbar ist (2), sind in verschiedenen Höhen und Stellen innerhalb des Kastens angebracht.

Die am Kopfende befindliche, etwa 60 *cm*³ große Öffnung des Kastens wird durch einen Glasdeckel *(3)* dadurch abgeschlossen, daß sein etwa 10 *cm* hoher Rand in eine entsprechend große Rinne *(4)* des Kastens, welche mit Paraffin gefüllt ist, taucht.

Taucht der Glasdeckel in die Paraffinrinne ein, so steht die Innenluft des Kastens nur noch an 3 Stellen mit der Außenluft in Verbindung. Es sind dies das Luftzuführungsrohr *(5)*, das Luftabführungsrohr *(6)* und eine kleine Öffnung *(7)* zur Entnahme von Luft aus dem Kasten zwecks Analysierung derselben.

Die Temperaturregulierung der Innenluft geschieht durch eine Regenbrausevorrichtung, d. h. es werden mittelst Röhren *(8)*, welche mit ganz feinen Löchern versehen und an den Rändern und an der Oberfläche des Kastens verlaufen, kühles Wasser an die ganze Oberfläche des Kastens angespritzt, wodurch die Temperatur im Innern des Kastens in ausgezeichneter Weise reguliert werden kann. Das Wasser, welches bei *9* aus einer Wasserleitung in die Röhren der Brausevorrichtung einfließt, wird bei *10* wieder abgeleitet, nachdem es sich in einer an der unteren Peripherie des Kastens befindlichen Rinne *(11)* gesammelt hat.

Der Respirationsversuch wird nun bei den Menschen in derselben Weise wie bei den Tieren ausgeführt, d. h. der Apparat wird zuerst hergerichtet, der Natronkalkzylinder *(12)* und die Schwefelsäureflasche *(13)* gewogen in den Apparat eingesetzt, dann durch ein Gebläse ein Überdruck in dem Apparat erzeugt, die Luft im Innern des Apparates gemischt, zur Analyse ein kleiner Teil genommen und alsdann die Innenluft auf 30 *mm* H_2O Überdruck eingestellt. Gleichzeitig werden die Temperaturen der Innenluft des Apparates und auch der Zimmerluft notiert und der Barometerstand abgelesen.

Alsdann begibt sich der Patient mit einem Uringlas etc. bewaffnet durch die oben beschriebene Öffnung in den Kasten, der letztere wird durch Eintauchen des Deckels in die Paraffinrinne geschlossen. Danach wird die Innenluft des Kastens durch den Ventilator gemischt, die Wand desselben ein paar Minuten lang mit Wasser berieselt und Zimmerluft mit einem Gebläse durch den Kasten durchgeblasen.

Unmittelbar vor dem Beginn des Versuches werden 2mal 100 *cm* der Innenluft des Kastens (bei *7*) zur Analyse entnommen, dann die Zu- und Abflußrohre des Kastens durch die an denselben befindlichen Glasschliffe mit den vorher abgeklemmten Gummirohren und Glasschliffen des Apparates *14* verbunden, worauf die Klemmen abgenommen werden und dadurch eine Kommunikation der Luft des Kastens und des Apparates hergestellt wird. Zu derselben Zeit wird die Temperatur des Kastens, der Zimmerluft und der Barometerstand notiert und die Pumpe des Apparates in Gang gesetzt.

Während des Versuches hat man dann nur nötig, die Temperatur der Innenluft des Kastens durch Berieselung zu regulieren und je nach Stand der Gummikappe Sauerstoff aus der Bombe, welche man natürlich vorher gewogen und an das System angeschlossen hat, zuzuleiten.

Am Ende des Versuches stellt man zuerst die Pumpe ab, klemmt die Verbindungsschläuche des Apparates bei *15* ab und trennt sie dadurch von den Zuleitungsröhren des Kastens und der Kastenluft. Nun wird wieder die Luft zur Analyse aus dem Kasten entnommen, sofort die Temperaturen im Kasten und der Barometerstand abgelesen, worauf nach Abheben des Glasdeckels der Patient den Kasten verlassen kann.

Die weitere Behandlung des Apparates ist die gleiche wie bei den einfachen kurzdauernden Maskenversuchen.

Schema der Berechnung eines Kastenversuches am Menschen.

Patient J. R., Diabet. mellit., Körpergewicht 47·5 *kg*, nüchtern.

Beginn 9 Uhr 4 Minuten.	Ende 12 Uhr 8 Minuten.
Zimmertemperatur 17·2°.	17·3°
Barometer reduziert 747·76 *mm* Hg.	747·74 *mm* Hg.
Apparat.	
Temperatur (Mittel): 17·6°.	18·5°.
Überdruck im Apparat = 30 *mm* H_2O = 2·21 *mm* Hg.	Ebenso.
Gesamtdruck im Apparat = 749·97 *mm* Hg.	749·95 *mm* Hg.
Reduziertes Volumen = 20.165 *cm*^{3}.	
Volumen bei 17·6° und 749·97 *mm* Hg = 21.750 *cm*^{3}.	Volumen bei 18·5° und 749·95 *mm* Hg = 21.820 *cm*^{3}.
Luftanalyse vor Versuch im Apparat = 20·52% O_2 + 79·48% N_2 + 0% CO_2.	
Luftanalyse nach Versuch im Apparat = 24·37% O_2 + 75·63% N_2 + 0% CO_2.	
O_2-Menge vor Versuch 4463·3; O_2-Menge nach Versuch 5317·4 = O_2-Zunahme 854·1 *cm*^{3}.	N_2-Menge vor Versuch im Apparat 17.288 *cm*^{3}; N_2-Menge nach Versuch im Apparat 16.502 *cm*^{3} [illegible] nahme [illegible]
Kasten.	
Temperatur (Mittel): 17·3°.	17·5°.
Reduziertes Volumen = 578.700 *cm*^{3} abzüglich Volumen des Pat. = 531.200 *cm*^{3}.	

Volumen bei 17·3° und 747·76 *mm* Hg = 574.060 *cm*³.
Luftanalyse vor Versuch: 20·30% O_2 + 79·70% N_2 + 0% CO_2.
Luftanalyse nach Versuch: 19·84% O_2 + 80·16% N_2 + 0% CO_2.
O_2 vor Versuch = 116.540 *cm*³; N_2 vor Versuch = 457.530 *cm*³.
O_2 nach Versuch = 113.980 *cm*³; N_2 nach Versuch = 460.510 *cm*³.
O_2-Abnahme = 2560 *cm*³; N_2-Zunahme = 2980 *cm*³.

— Volumen bei 17·5° und 747·74 *mm* Hg = 574.490 *cm*³.

Zugeführter Bombensauerstoff: 50·927 *g* O_2 enthält 3·33% N_2 = 1·697 *g* N_2 = 49·229 *g* reiner O_2.
Ausgeschiedene CO_2 = 50·279 *g*.
In Volumina umgerechnet = 34.450 *cm*³ O_2 — 1350·9 *cm*³ N_2 — 25.592 *cm*³ CO_2.
O_2 aus Bombe = 34.450 *cm*³.
O_2 aus System = 1706 *cm*³.
O_2-Verbrauch = 36.156 *cm*³.

$$RQ = \frac{CO_2}{O_2} = \frac{25.592}{36.156} = 0·707.$$

Gefundene Stickstoffzunahme im System . . =	2194 *cm*³
Berechnete Zufuhr . . . =	1350·9 *cm*³
Stickstoffbilanz . . . . =	+ 843·1 *cm*³

O_2-Verbrauch pro Minute und Kilogramm = 4·137 *cm*³.
CO_2-Ausscheidung pro Minute und Kilogramm = 2·928 *cm*³.

Anmerkung: In diesem Falle keine Zunahme an CO_2 im Kasten am Ende des Versuches. Differenz lag innerhalb der Fehlergrenzen.

Ganz kürzlich beschrieb *Benedict* [1]) die Einrichtung seines Apparates für Untersuchungen bei Tieren oder Säuglingen.

Die Anwendung ist nach der Zeichenerklärung und der früher gegebenen Beschreibung der Apparatur aus der instruktiven Zeichnung Fig. 88 ohne weiteres ersichtlich. Auch *Rolly* hat seinen Apparat für Tierversuche eingerichtet.

Technik und Berechnung der Versuchsresultate ist prinzipiell die gleiche wie bei den Apparaten für kurzfristige Versuche.

Auch dem Respirationsapparat von *Oppenheimer*, *Schlossmann* und *Murschhauser* [2]), der sich eng an den Apparat für Tiere von *Oppenheimer* [3]) und *Zuntz* anlehnt, liegt das *Reignault-Reiset*sche Prinzip zugrunde. Bezüglich der genaueren Angaben und Versuchstechnik sei auf die Beschreibung von *Langstein* in Bd. III. S. 1027 u. ff. dieses Handbuches hingewiesen.

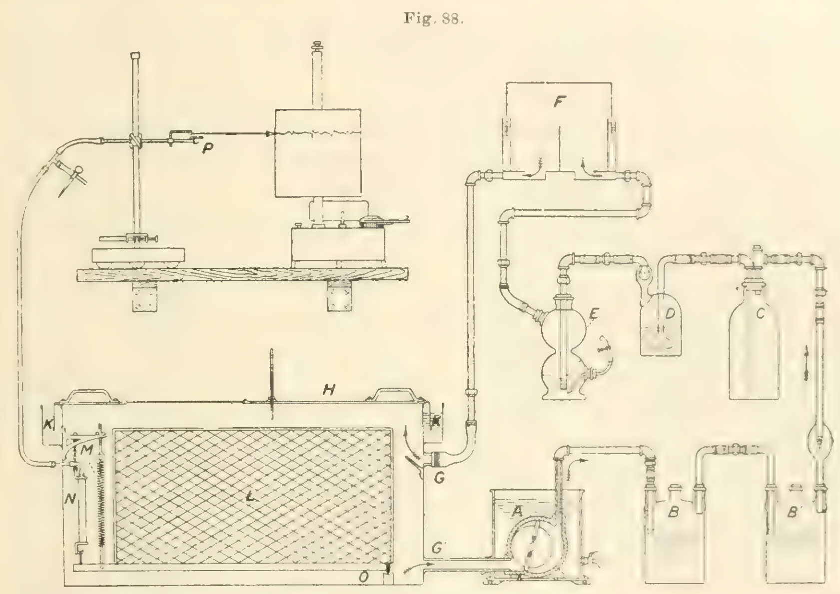
Es ist fraglich, ob das Prinzip auch zur Untersuchung erwachsener kranker Menschen sich verwerten läßt. Versuche eines derartig konstruierten Apparates fehlen bisher.

[1]) Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. **107**. S. 190 (1912).
[2]) Biochem. Zeitschr. Bd. **14**. S. 369, 385.
[3]) *Oppenheimer*, Biochem. Zeitschr. Bd. **4**. S. 328.

Die Berechnung des Gesamtstoff- und Kraftwechsels.[1]

Auch ohne gleichzeitige Kalorimetrie läßt sich unter normalen Verhältnissen ein sehr genaues Bild vom Gesamtstoff- und Kraftwechsel erhalten, wenn man die Bilanzen für C, O, H, N und Gesamtasche in mindestens 12—24stündigen Versuchsperioden feststellt. C, O und H in der Respiration werden mit einem der geschilderten Apparate bestimmt. Für die Analyse von Nahrung, Kot und Harn empfiehlt sich am meisten der Gebrauch der *Berthelot*schen Bombe, da man in dieser an derselben Menge

Fig. 88.



Ansicht der *Benedict*schen Apparatur mit Einschaltung einer Kammer für Versuche mit Tieren oder Säuglingen.

Rotationspumpe *(A)*, *Woulff*sche Flaschen *(B* und *B')*, Natronkalkflasche *(C)*, Schwefelsäureflasche *(D)*, Luftanfeuchter *(E)*, Spirometer *(F)* und Verbindungen *(G, G')* mit der Respirationskammer. Der Käfig oder das Bett *(L)* ruht auf der einen Seite auf Schneiden *(O)* und die andere Seite wird von einer starken Feder *(M)* gehalten. Ein Pneumograph *(N)* stellt die Verbindung mit dem Tambour *(P)* her, der auf einem Zylinder schreibt. Der Kasten wird durch den Deckel *(H)* verschlossen, der in den Wasserverschluß *(K K)* paßt.

Substanz den Kaloriengehalt, Kohlensäure, Sauerstoff, Wasserstoff und Asche bestimmen kann.

Bezüglich der Methodik der Kalorimetrie sei auf die Beschreibung von *Hari* und *Weiser* in Bd. I dieses Handbuches hingewiesen.

Nach Beendigung der Verbrennung läßt man ähnlich wie bei der Elementaranalyse die Verbrennungsgase durch Chlorkalziumröhrchen und Kalilaugeapparate langsam hindurchperlen und bekommt auf diese Weise

[1]) Im folgenden sind nur einige wichtige Punkte hervorgehoben und den Gang der Berechnung skizziert, der sich dem Verfasser am meisten bewährt hat. Bezüglich der umfassenden Darstellung der Sache sei auf die Ausführungen von *Johansson* in Bd. III, S. 11 hingewiesen.

den Gehalt der Substanz von C und H.[1]) Die Asche bleibt in der Bombe zurück und kann dort unter Berücksichtigung des zur Zündung benutzten Metallfadens gewichtsanalytisch bestimmt werden.

Der Sauerstoffgehalt der Substanzen läßt sich in doppelter Weise feststellen.

Einmal sehr einfach auf indirektem Wege, jedoch nicht mit so großer Genauigkeit wie bei den anderen Substanzen.

Man braucht nur von dem Gewicht der lufttrockenen Substanzen sämtliche Werte für den Gehalt an C, H, N und Asche in Abzug zu bringen. Die Differenz gibt dann den O-Gehalt an, dabei ist aber zu berücksichtigen, daß sämtliche Analysenfehler sich auf die O-Bestimmung häufen.

Genauer, aber sehr viel komplizierter ist die direkte Bestimmung des O. Am besten verfährt man dabei nach *Zuntz* und *Frentzel*[2]), indem man die zur Verbrennung in die Bombe eingegebene Menge Sauerstoff und den nach der Verbrennung restierenden Teil des Gases entweder durch Wägung oder durch Messung in einer sehr genauen Gasuhr bestimmt, nachdem man vorher den Prozentgehalt der Gasgemische an O gasanalytisch genau festgestellt hat.

Sind so sämtliche genannten Größen für die Ein- und Ausfuhr bekannt, so werden die Werte für N, C, H und O in die Gleichungen von *Benedict* und *Millner* (vgl. *Johanssons* Ausführungen in Bd. III. S. 1139 des Handbuches) eingesetzt und daraus in einfacher Weise die Menge der umgesetzten Nahrungsstoffe bzw. da der Wert von Nahrung, Kot und Harn gleichfalls bekannt ist, auch der ganze Energieumsatz berechnet.

Aber auch in den Fällen, in welchen nur N, C und O bekannt sind, läßt sich die Menge des umgesetzten Materials und die Wärmeabbildung mit genügender Genauigkeit nach *Zuntz* feststellen.

Es ist nur nötig, von den im Respirationsversuch gefundenen Mengen aufgenommenen Sauerstoffs und gebildeter Kohlensäure die Menge in Abzug zu bringen, die auf die Verbrennung von Eiweiß (6·25mal N im Harn) entfällt, nämlich pro 1 *g* N im Harn 5·923 CO_2 und 4·754 CO_2 [3]), und aus dem dann sich ergebenden respiratorischen Quotienten, der dann nur noch die Resultante der Verbrennungen von Fett- und Kohlehydrate ist, die Menge dieser Stoffe bzw. die durch deren Verbrennung entstandene Wärme zu berechnen.

Zuntz[4]) hat für die Kalorienberechnung auf Grund des respiratorischen Quotienten nach Abzug der Werte für das zersetzte Eiweiß folgende sehr einfache Tabelle angegeben:

---

[1]) *Berthelot,* Ann. de chim. et de phys. VI. 26. 555 (1892). — *Hempel,* Zeitschr. f. angew. Chem. Jahrg. 1896. S. 350 (1896). — *Kroecker,* Ber. d. Deutschen chem. Ges. Bd. **30**. I. S. 605 (1897). — *Grafe,* Biochem. Zeitschr. Bd. **24**. S. 277 (1910).

[2]) Ber. d. Deutschen chem. Ges. Bd. **30**. I. S. 380 (1897).

[3]) Es sind dies die *Zuntz*schen Durchschnittszahlen (vgl. Höhenklima und Bergwanderung in ihrer Wirkung auf den Menschen. S. 103; ferner Lehrb. d. Physiol. S. 661. Je nach der Zusammensetzung des tierischen Eiweißes fallen die Werte verschieden aus, vgl. auch *Johansson,* Bd. **3**. S. 1139.

[4]) *Zuntz-Loewy,* Lehrb. d. Physiol. S. 663.

Respiratorischer Quotient	Wärmeproduktion Kal	Gl[illegible] = y	[illegible]
0·7133	4·7950	0·0000	0·5027
0·72	4·8015	—	—
0·75	4·8290	0·1543	0·4384
0·80	4·8748	0·3650	[illegible]
0·85	4·9207	0·5756	0·2630
0·90	4·9665	0·7861	0·1753
0·95	5·0123	0·9966	0·0877
1·00	5·0581	1·2071	0·000

So läßt sich bei jedem respiratorischen Quotient nach Korrektur für die Eiweißverbrennung direkt ablesen, wieviel Kalorien, wieviel Fett und Kohlehydrate jeweils einem Liter Sauerstoff entsprechen.

Der Tabelle sind die Werte für die Zusammensetzung des menschlichen Körpers zugrunde gelegt, sie gelten also streng genommen nur für Versuche im Hungerzustande beim Menschen. Die Zusammensetzung von Fett und Kohlehydraten anderer Herkunft, wie sie unsere Nahrung bringt, ist indes so wenig abweichend von den Zahlen, die *Zuntz* der obigen Tabelle zugrunde legte, daß man keinen erheblichen Fehler begeht, wenn man sich auch in solchen Fällen der *Zuntz*schen Tabellen bedient.

Allerdings ist, wie *Rubner*[1]) hervorgehoben hat, eine derartige Berechnung auf Grund des respiratorischen Quotienten nur dann exakt, wenn keine Vorgänge im Organismus vorliegen, die, allein für sich betrachtet, eine Erhöhung oder Erniedrigung des respiratorischen Quotienten über die normalen Grenzen von 0·7—1·0 hinaus stattfinden (Fettbildung aus Zucker, Zuckerbildung aus Eiweiß).

Beim normalen, ausreichend ernährten Menschen spielen derartige Prozesse aber eine so untergeordnete Rolle, daß die *Zuntz*sche Rechnungsweise ihre volle Berechtigung hat.

Bezüglich der analytischen Grundlagen und der Details der Berechnung sei auf die ausführlichen Auseinandersetzungen von *Johansson* (Bd. III, S. 1139) verwiesen. Man findet dort auch ein großes Analysenmaterial und andere Wege der Berechnung, die natürlich zu annähernd den gleichen Resultaten führen, erläutert.

In pathologischen Fällen kompliziert sich die Berechnung manchmal dadurch, daß die respiratorischen Quotienten nach Korrektur für das Eiweiß außerhalb der Breite von 0·7133—1·00 fallen. Das ist einmal der Fall, wenn außer der Umsetzung von Zucker und Fett noch Anomalien im Abbau der Nahrungsstoffe vorliegen, wie z. B. beim Diabetes mellitus, wo nicht nur die Azetonkörperbildung, sondern auch die Zuckerbildung aus

[1]) *Tigerstedt*s Handb. d. physiol. Method. Bd. 1. 3. Abt. S. 181 (1911).

Eiweiß oder Fett besondere Korrekturen notwendig machen. Unter Benutzung der Analysewerte für den während der Versuchszeit gesammelten Harn (Zahlen für Dextrose, $\frac{D}{N}$, Azetonkörper, NH_3 etc.) lassen sich zwar eine Reihe von weiteren Korrekturen[1]) berechnen, aber eine exakte Bestimmung der Energieproduktion ist in solchen Fällen nicht möglich.

Das Gleiche gilt für die Fälle, in denen infolge von starker Fettbildung aus Zucker (z. B. in der Rekonvaleszenz nach Krankheiten mit langdauernder Unterernährung) die respiratorischen Quotienten über 1·0 hinausgehen.

Leider liegen bisher Untersuchungen über den kalorischen Wert eines Liters Sauerstoff für derartig hohe Quotienten noch nicht vor.

Eine gewisse Ungenauigkeit würde aber auf jeden Fall bestehen bleiben, da es ohne weitere Hilfsmittel nicht möglich ist, die 3 Komponenten, deren Resultante dann RQ ist (Zuckerverbrennung, Fettverbrennung, Fettbildung aus Zucker), auseinander zu rechnen. Denkbar wäre jedoch, daß in solchen Fällen die Fettverbrennung eine so minimale ist, daß man sie, ohne einen nennenswerten Fehler zu begehen, vernachlässigen kann.

ANHANG.

Das Arbeiten mit Gasuhren.

Die Verwendung von Gasuhren in der Methodik für die Untersuchung des respiratorischen Gaswechsels ist eine so weitgehende, daß eine Beschreibung ihrer Einrichtung und Behandlung notwendig erscheint.

Fig. 89 zeigt die Innenanordnung einer Gasuhr von vorne, Fig. 90 von der Seite.[2])

Durch das Einstromrohr E und die Ventilkammer v_1 gelangt die Luft in den Luftkasten B, von hier durch das gebogene kurze Rohrstück L in die große Meßtrommel T, welche 4 Kammern aus verzinntem Kupferblech enthält und sich in dem schwarzlackierten Blechgehäuse A dreht. Das Gehäuse ruht auf dem breiten, mit 4 Fußnägeln (H_1) versehenen Fußgestell H.

Von den 4 Kammern der Trommel enthalten 3 Luft, je nach der Stellung die eine mehr als die andere.

Die erste Kammer nimmt die Luft auf und gibt sie an die zweite, die nur Luft enthält, weiter, während durch die dritte das gemessene Luftvolumen nach rückwärts aus der Trommel in den Raum zwischen dieser und dem Außengehäuse entweicht und bei A_1, der Ausströmöffnung, die Gasuhr verläßt.

---

[1]) Beispiele bei *Grafe*, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. **65**. S. 47 (1910). — *Grafe* und *Wolff*, Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. **107**. S. 228 (1912).

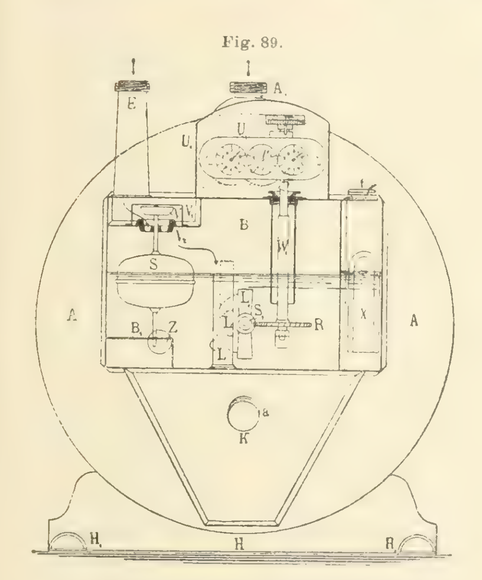
[2]) Die Abbildungen sind dem Handbuch der physiol. Methodik von *Tigerstedt*, Bd. I, 3. Abteilung, S. 144 entnommen.

Jede Trommelumdrehung befördert somit ein bestimmtes Luftvolumen durch die Gasuhr.

Die Drehung der Trommel wird besorgt durch die Achsenwelle W, welche bis in den Luftkasten hineinragt und hier auf dem Lager L_1 ruht. An ihrem vorderen Ende sitzt eine doppelgängige Schnecke S_1 auf und diese greift in das mit Zähnen versehene Schneckenrad R ein. Die Umdrehungen dieses Rades werden durch die Drehung der ihr angefügten Achsenwelle W_1 auf das Zeigerwerk U_1 übertragen, welches sich in dem Uhrwerkskasten U, der eine Fortsetzung des Brustkastens B nach oben darstellt, befindet.

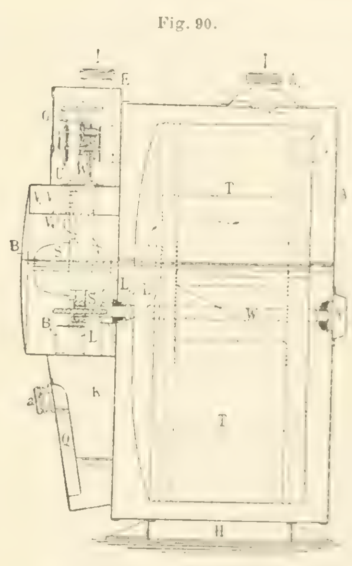
Bei größeren Uhren sind gewöhnlich mehrere (3—4) Zifferblätter angebracht.

Fig. 89.



Schematische Ansicht der Einrichtung einer Gasuhr von vorne.

Fig. 90.



Schematische Ansicht der Einrichtung einer Gasuhr von der Seite.

Die Zahnradübertragungen der Umdrehungen der Welle W_1 sind dabei so gewählt, daß das erste Zifferblatt die Anzahl der 10.000 l, das zweite die Tausende und das dritte die Hunderte anzeigt, während ein vierter Zeiger, auf einem großen Zifferblatt, in dessen Innenraum gewöhnlich die anderen angebracht sind, die Einer bzw. deren Bruchteile angibt.

Kleine Gasuhren pflegen gewöhnlich nur ein Zifferblatt zu haben, die die Maße eventuell bis auf 10 cm^3 genau angibt.

Bevor eine Gasuhr in Gebrauch genommen wird, muß darauf geachtet werden, daß sie vollkommen horizontal steht. Da die meisten an den Füßen (H_1) Schrauben besitzen, läßt sich die Stellung nach einer [illegible] an der Gasuhr angebrachten Libelle sehr fein regulieren.

Zur Füllung der Gasuhr braucht man wohl am zweckmäßigsten Wasser. Auch Paraffinöl wird zumal da, wo es auf Wasserdampfbestimmungen ankommt, dafür gebraucht[1]), jedoch werden von technischer Seite[2]) dagegen Bedenken geäußert. Im Laufe der Zeit soll eine Eindickung des Paraffins sich nicht vermeiden lassen. Die Folge davon wäre, daß Meßfehler entstehen können, indem die Kammerwände der Meßtrommel bei der Umdrehung Paraffinöl mitnehmen, welches, wenn es dickflüssig ist, während des Drehens nur langsam von der Wand der Meßkammer herabfließt und dadurch eine Verkleinerung des Meßraumes und eine Ungenauigkeit der Zählangaben bewirkt. Des weiteren tritt auf die Dauer leicht eine Bildung von Fettsäuren im Paraffin ein und dadurch eine Anätzung des verzinnten Kupferblechs der Trommel.

Die Füllung der Gasuhr wird in der Weise vorgenommen, daß die Metallverschlüsse bei a und f abgeschraubt werden. Dann wird durch die Öffnung f so lange Wasser in die Gasuhr, deren Achse dabei nicht fixiert sein darf, eingegossen, bis bei a Wasser abläuft. Es ist dies ein Zeichen, daß der Wasserspiegel in der Gasuhr die obere Öffnung von L erreicht hat. Man schließt dann die Schraube a und setzt die Gasuhr in Gang. Nachdem sich eventuelle Druckschwankungen im Apparat völlig ausgeglichen haben, wird noch etwas Wasser in die Gasuhr gegossen, damit der Wasserspiegel mit dem Oberrand von L vollständig abschneidet, und dann auch die Öffnung bei f geschlossen, was zweckmäßig durch Aufschrauben eines kleinen Wassermanometers[3]) zur Kontrolle des in der Gasuhr herrschenden Druckes geschieht.

Ehe eine Gasuhr für wissenschaftliche Messungen benutzt werden kann, muß sie genau geaicht[4]) sein, d. h. die vom Zählwerk angegebenen Zahlen müssen wirklich der Luftmenge entsprechen, die im gleichen Zeitraum die Gasuhr passiert hat. Gewöhnlich werden solche Aichungen und Kontrollierungen mit aller wünschenswerten Sicherheit und Genauigkeit in den Fabriken vorgenommen, von welchen die Gasuhren bezogen werden. Von der Richtigkeit der Maßangaben kann man sich aber auch selbst jederzeit überzeugen, indem man sie an einem genau anzeigenden größeren Spirometer, von dem aus eine bestimmte, dem Volumen nach genau bekannte Luftmenge in die Gasuhr einsaugen läßt, kontrolliert oder, wie *Benedict*[5]) es kürzlich empfohlen hat, aus einer Bombe eine dem Gewicht nach genau bekannte Menge Gas hineinleitet. Wenn Temperatur, Druck und Zusammensetzung des Gases bekannt sind, ist auch das von ihm eingenommene Volumen leicht zu berechnen.

---

[1]) Z. B. von *Rubner* und *Stähelin*.

[2]) Briefliche Mitteilungen von der Firma *S. Elster*, Berlin.

[3]) In den Figuren nicht mitgezeichnet.

[4]) Vgl. auch die Ausführungen und die Abbildung bei *Franz Müller* in Bd. III, S. 568 des Handbuches.

[5]) Deutsches Archiv f. klin. Medizin. Bd. **107**. S. 181 (1912).

Wichtig ist darauf zu achten, daß stets der Wasserspiegel in der Gasuhr die gleiche, oben beschriebene Höhe behält. Besonders in der heißen Jahreszeit können oft recht erhebliche Mengen von Wasser in der Gasuhr verdunsten. Dadurch erniedrigt sich allmählich das Wasserniveau und die Zählangaben werden dann ungenau. Durch Nachfüllen von Wasser in kürzeren Zeiträumen läßt sich diese Fehlerquelle leicht ausschalten.

Bei sehr großer Ventilation und geringem Feuchtigkeitsgehalt der angesogenen Luft empfiehlt es sich, wie *Rubner*[1]) es an seinem Apparat getan hat, eine Einrichtung zu treffen, bei der dauernd durch die Gasuhr Wasser fließt.

Bezüglich der Weite des Röhrensystemes, aus dem die Gasuhr Luft ansaugen soll, ist streng dafür Sorge zu tragen, daß die Rohre weit genug sind. Je kleiner die Gasuhren sind, desto weniger leicht können sie das Entstehen von stärkerem negativen Druck in der Rohrleitung vertragen. Das Verhalten des Druckes kann man zweckmäßig an einem kleinen Wassermanometer (ein gewöhnliches U-förmiges Glasrohr mit Graduierung) ablesen, das, wie oben erwähnt, statt der Verschlußschraube bei *f* aufgeschraubt wird.

Bei normalem Gang der Gasuhr dürfen niemals nennenswerte Schwankungen im Druck auftreten, nur ein leichtes Zittern der Wasserspiegel ist manchmal sichtbar. Das Entstehen von negativem Druck involviert stets die Gefahr, daß in die Gasuhr statt aus der Rohrleitung von außen durch *A* (Fig. 89 und 90), entgegengesetzt dem gewöhnlichen Wege, Luft in die Kammern eingesogen wird. Am Wassermanometer verrät sich das sofort durch ein Absinken des negativen Druckes und in der Gasuhr selbst entstehen eigentümliche gurgelnde Geräusche.

Sobald dies Ereignis eingetreten ist, muß die Gasuhr, ehe sie wieder neu benutzt werden kann, ganz entleert (durch Öffnen der Verschraubungen bei *a* und *f*) und wieder von neuem gefüllt werden.

Erwähnt sei, daß es in gewissen Fällen zweckmäßig ist, unter Wasser stehende Gasuhren zu benutzen (vgl. die Abbildung der *Bohr*schen Gasuhr auf S. 465).

Das Luftvolumen, welches im Laufe eines Versuches die Gasuhr durchströmt hat, darf niemals ohne Korrekturen in Rechnung gestellt werden. Es bedarf stets der Reduktion auf die Normalverhältnisse 0°, 760 *mm* Hg und absolute Trockenheit. Diese geschieht nach den *Boyle-Mariotte*- und *Gay-Lussac*-Gesetzen mit Hilfe der bekannten Formel

$$V_0 = \frac{v \, . \, B - te}{760(1 + 0{\cdot}00367\,t)};$$

v bedeutet dabei das an der Gasuhr abgelesene Luftvolumen, t den Mittelwert der Temperaturen in der Gasuhr zu Anfang und zu Ende des Versuches, B den mittleren während des Versuches herrschenden Barometerdruck (korrigiert für Quecksilber, 0° und Breitegrad), te die Wasserdampfspannung bei Mitteltemperatur t. Für te kann ohne irgendwie nennenswerten Fehler bei

[1]) Vgl. *Wolpert* l. c.

Wasserfüllung, langsamem Gang der Gasuhr und mittlerem Wasserdampfgehalt der Einstromluft die maximale Wasserdampfspannung (vgl. *Landolt-Börnstein*, Tabelle 25 u. ff., Tabelle 8 u. ff.) eingesetzt werden. Unter anderen Verhältnissen, besonders aber bei Füllung der Gasuhr mit Paraffin, muß stets die relative Feuchtigkeit der zur Messung kommenden Luft durch Psychrometerablesungen (s. oben S. 514 u. ff.) bestimmt werden.

Nähere Angaben über die Reduktion von Gasvolumina bei *Franz Müller* in Bd. III, S. 588 dieses Handbuches.

Die Prüfung der Leistungsfähigkeit eines Respirationsapparates.

Jeder neu konstruierte Apparat muß, ehe er für Untersuchungen am Tiere oder an Menschen in Gebrauch genommen werden kann, geaicht werden. Auch die theoretische Erörterung und Berechnung der möglichen maximalen Fehlerquellen kann niemals die praktische Prüfung der Leistungsfähigkeit ersetzen.

Es wird diese meist in der Weise vorgenommen, daß in der Respirationskammer Substanzen genau bekannter Zusammensetzung verbrannt werden. Die im Versuche gefundenen Werte für CO_2, O, H_2O werden dann verglichen mit den Zahlen, die für diese Gase durch Elementaranalyse der zur Verbrennung gelangenden Substanz festgestellt wurden.

Die Stoffe, welche gewöhnlich für derartige Kontrollverbrennungen benutzt werden, sind Paraffinkerzen und Alkohol, eventuell auch Äther. Bei der Verwendung von Paraffinkerzen, welche wohl die einfachste Methode darstellt, muß die Zusammensetzung des Materiales vorher durch Elementaranalyse[1]) genau bekannt sein, und zwar müssen Docht und Paraffin dabei getrennt untersucht werden.

Sind z. B.[2]) 34·825 *g* Kerze (enthaltend 34·728 *g* Paraffinsubstanz und 0·097 *g* Docht) mit einem Gehalt von 82·65% C, 15·04% H und 2·31% O verbrannt, so sind dazu 82·49 *l* O_2 nötig und es entstehen 53·77 *l* CO_2 und 47·14 *g* H_2O. Diese Zahlen werden durch folgende Berechnung erhalten.

Um 1 *g* H zu H_2O zu verbrennen, sind $\frac{16}{2} = 8\,g$ O_2 nötig, mithin bei 34·825 *g* Kerzensubstanz und 15·04% H

$$\frac{15{\cdot}04 \times 34{\cdot}825 \times 8\,g}{100} = 41{\cdot}91\,g.$$

Zur Verbrennung von 12 Gewichtsteilen C zu Kohlensäure sind 32 Gewichtsteile O_2 nötig, mithin bei 34·825 *g* Kerzensubstanz und 82·65% C

$$\frac{82{\cdot}65 \times 34{\cdot}825 \times 32}{100 \times 12}\,g = 76{\cdot}78\,g\ O_2;$$

---

[1]) Über die Technik der Elementaranalysen vgl. die Ausführungen in Bd. I des Handbuches.

[2]) Beispiel bei *Stähelin* und *Kessner*, l. c.

da die Kerzensubstanz selbst $2{\cdot}31\,\% = \frac{34{\cdot}825 \times 2{\cdot}31}{100} = 0{\cdot}8045\,g$ O enthält, brauchen zur Verbrennung nur

$$\begin{array}{rl} 41{\cdot}91 & g \\ +\ 76{\cdot}78 & „ \\ \hline 118{\cdot}69 & g \\ -\ 0{\cdot}805 & „ \\ \hline 117{\cdot}885 & g \end{array}$$

O aus der Luft aufgenommen zu werden. Da $1\,l\,O_2 = 1{\cdot}43003\,g\,O_2$ entspricht, ist der Sauerstoffverbrauch bei der vollständigen Verbrennung der Kerze

$$\frac{117{\cdot}885}{1{\cdot}43003} = 82{\cdot}49\,l\,O_2.$$

Da auf 12 g Gewichtsteile C 44 Teile CO_2 kommen und $1\,l\,CO_2 = 1{\cdot}96633\,g$ wiegt, ist die Kohlensäureproduktion $= \frac{82{\cdot}65 \times 34{\cdot}825 \times 44}{100 \times 1{\cdot}9663 \times 12} = 53{\cdot}77\,CO_2$.

da 2 Gewichtsteilen H 18 Gewichtsteile H_2O entsprechen, entstehen bei der Verbrennung der Kerze

$$\frac{15{\cdot}04 \times 34{\cdot}825 \times 9}{100} = 47{\cdot}14\,g\ H_2O.$$

Die Kerze wird am zweckmäßigsten von außen (durch eine Öffnung des Apparates) angezündet, z. B. auf elektrischem Wege, indem man einen Platindraht um den Docht legt und den elektrischen Strom bis zum Anbrennen der Kerze durchleitet. Der Draht muß dann allerdings gleich wieder beseitigt werden, da die Kerze sonst leicht rußt und somit unvollständig verbrennt. Auch das Auslöschen der Kerze muß im geschlossenen Apparate vorgenommen werden, indem man eine geeignete Vorrichtung durch die Wand einführt.

Manche Autoren haben mit Kerzen wenig günstige Erfahrungen gemacht[1]), tatsächlich besteht auch wohl die Gefahr einer nicht ganz vollständigen Verbrennung zumal am Docht. Die dadurch entstehenden Fehler sind aber meist wohl sehr gering.

Immerhin ist es wohl mehr zu empfehlen, eine Substanz zur Verbrennung zu nehmen, die sehr leicht und stets vollständig verbrennt, z. B. hochprozentiger Alkohol. Absoluten Alkohol zu verbrennen, ist darum weniger ratsam, weil er sehr schwer ganz wasserfrei sich halten läßt, wenn die Flasche einmal geöffnet ist. Am besten stellt man sich 92 bis 96%igen Alkohol her, indem man von der Fabrik bezogenen garantiert reinen und wasserfreien Alkohol unter allen Kautelen in ein vollkommen lufttrockenes Gefäß füllt, dieses sofort verschließt, die Menge absoluten

---

[1]) Z. B. *C. Voit, E. Voit, J. Forster,* Zeitschr. f. Biol. Bd. 11. S. 126 u. f. (1875).

Alkohols wägt und dann mit der gewünschten Menge reinen, doppelt destillierten Wassers versetzt und genau dessen Menge feststellt.[1])

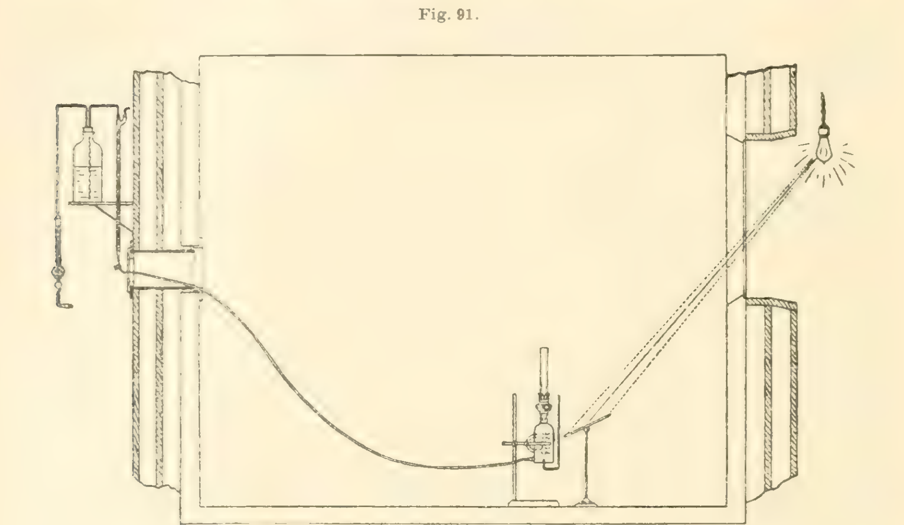
Von einem derartig 92⁰/₀ig gemachten Alkohol läßt man pro Stunde etwa 10—15 *g* in der Kammer verbrennen und erhält dann bei einer Ventilation von ca. 25 *l* pro Minute eine Zusammensetzung der Kammerluft, wie sie ungefähr einem Versuche beim Menschen entspricht.

Eine sehr zweckmäßige Art der Verbrennung des Alkohols haben *Atwater* und *Benedict*[2]) angegeben.

Die Anordnung geht aus Fig. 91 deutlich hervor.

Der Alkohol verbrennt in einer mit einem Argandbrenner versehenen Glaslampe, noch besser nimmt man eine kleine Spiritusglühlichtlampe, bei

Fig. 91.



Vorrichtungen zur Verbrennung von Alkohol bei der Prüfung der Leistungsfähigkeit großer Respirationsapparate. (Anordnung nach *Atwater* und *Benedict*.)

der wegen der hohen Hitzegrade die Garantie für eine restlose Verbrennung des Alkohols wohl am größten ist.

Die Lampe hat an der einen Seite ein dünnes feines Steigrohr aus Glas. Durch Aufstellung eines Spiegels, der in geeigneter Weise von außen beleuchtet wird, kann man den Stand des Alkohols in dem Steigrohr gut beobachten, zumal wenn man dem Alkohol eine minimale, für die Verbrennung quantitativ gar nicht in Betracht kommende Spur Methylenblau zusetzt. Auf der anderen Seite steht die Lampe durch einen Gummischlauch mit dem außerhalb der Kammer befindlichen Alkoholreservoir in Verbindung, dieses ist durch ein gut gestopftes Chlorkalziumrohr nach außen abgeschlossen, damit kein Wasserdampf eindringen kann. Zwischen

[1]) Vgl. *Grafe,* Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. **65**. S. 8 (1910).

[2]) Carnegie Institution Publicat. Vol. **42**. p. 96 u. ff. (1905).

Schlauch und Reservoir ist eine genau kalibrierte Bürette eingeschaltet, an der zu Anfang und zu Ende des Versuches der Stand des Alkohols abgelesen werden kann.

Im einzelnen gestaltet sich ein derartiger Verbrennungsversuch folgendermaßen:

Bürette, Schlauchleitung und Lampe werden nach Verdrängung jeder Spur Luft mit ca. 92%igem Alkohol [1]), der durch eine minimale Spur Methylenblau gefärbt ist, gefüllt, der Alkohol soll dabei in dem seitlich angebrachten Steigrohr ca. 1—2 *cm* oberhalb einer kleinen Marke stehen. Die Schlauchleitung wird abgeklemmt und die Lampe in der weitgeöffneten Respirationskammer angesteckt. Zunächst entstehen einige, etwas brenzlich riechende Verbrennungsprodukte, bis die Lampe vollständig hell aufglüht. Nachdem der Glühstrumpf vollkommen weißglühend geworden ist, wird die Luft- und Alkoholzufuhr so beschränkt, daß pro Stunde etwa 12—15 *g* Alkohol verbrennen, dann wird die Respirationskammer geschlossen und ventiliert, mit dem Deckenventilator wird die Luft gut gemischt.

Erst 1—2 Stunden später beginnt der eigentliche Prüfungsversuch, indem man durch den Schlauch genau so viel Alkohol in die Lampe einlaufen läßt, bis der Meniskus genau an der oben erwähnten Marke des Steigrohrs steht. Sofort wird eine Probe der Kammerluft entnommen, deren Zusammensetzung zu Anfang und zu Ende des Versuches gasanalytisch genau bestimmt werden muß.

Man kann den Versuch beliebig lange ausdehnen, indem man von Zeit zu Zeit immer aus dem Reservoir von außen etwas Alkohol in die Lampe einfließen läßt. Meist genügen 4—10stündige Versuche.

Der Versuch wird in der Weise beendet, daß man die Lampe auslöscht, z. B. durch den Zugwind, der entsteht, wenn man den Deckenventilator maximal anstellt, und so viel Alkohol einlaufen läßt, daß die Flüssigkeit wieder genau an der Marke steht, wie bei Beginn des eigentlichen Versuches.

Die während der Versuchsdauer verbrannte Menge Alkohol ist leicht zu bestimmen. Das kleine mit Alkohol gefüllte und als Reservoir dienende Kölbchen außerhalb des Apparates wird zweimal genau gewogen, jedesmal nachdem die Einstellung des Alkohols in der Lampe genau auf die Marke im Steigrohr eingestellt ist, d. h. also zu Ende und zu Anfang des eigentlichen Versuches.

Die Gewichtsdifferenz gibt die Menge verbrannten Alkohols an. An diesem Werte ist je nach dem Stande des Alkohols in der Bürette noch eine Korrektur anzubringen. Der Stand des Alkohols in dem Meßrohr muß nach Einstellung in der Lampe zu Anfang und zu Ende des Versuches notiert werden.

Steht der Alkohol bei der zweiten Ablesung tiefer wie bei der ersten, so ist die Differenz der Kubikzentimeter gegenüber der ersten Ablesung umgerechnet in Gramm des verwandten Alkohols zu der Gewichtsdifferenz des Kölbchens während des Versuches hinzuzuaddieren, im entgegengesetzten Falle (bei höherem Stand) davon zu subtrahieren.

---

[1]) In jedem einzelnen Falle muß natürlich die Menge des absoluten Alkohols in der Verdünnung ganz genau bekannt sein.

Die zur vollständigen Verbrennung von absolutem Alkohol notwendige Menge Sauerstoff und die dabei entstehende Menge Kohlensäure und Wasser lassen sich mit Hilfe der Molekulargewichte in einfachster Weise aus der Formel:

$$C_2H_6O + 3\,O_2 = 2\,CO_2 + 3\,H_2O$$

berechnen.

Zur Verbrennung von 1 *g* C_2H_6O (Molekulargewicht = 46·05) sind demnach 6 Gewichtsteile O nötig:

$$\frac{46{\cdot}05}{6 \times 16} = \frac{1}{x},$$

d. h. 1 *g* absoluten Alkohols bedarf zur vollkommenen Oxydation 2·085 *g* = 1·458 *l* O_2.

Ganz entsprechend ist der Ansatz für Kohlensäure (Molekulargewicht = 44)

$$\frac{46{\cdot}05}{2 \times 44} = \frac{1}{x}.$$

d. h. es entstehen

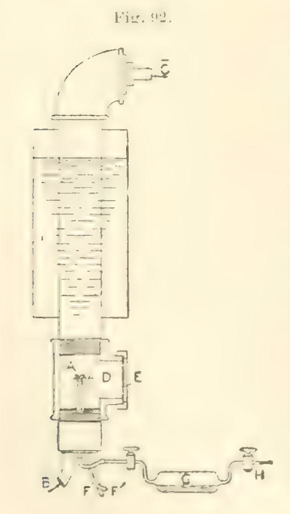
$$\frac{88}{46{\cdot}05} = 1{\cdot}911\,g = 0{\cdot}972\,l\ CO_2.$$

Auf 1 Gewichtsteil absoluten Alkohols kommen 3 Teile H_2O.

$$\frac{46{\cdot}05}{54{\cdot}045} = \frac{1}{x}.$$

mithin entsteht bei der vollständigen Verbrennung von einem Gramm absolut. Alkohols 1·1737 *g* H_2O. Da in dem Alkoholgemisch die Menge des absoluten Alkohols bekannt ist, läßt sich die verlangte CO_2 und O_2 sofort berechnen, für die Wasserdampfbestimmung ist noch die zur Verdünnung des absoluten Alkohols verwandte Menge zu dem auf absoluten Alkohol allein entfallenden Wert hinzuzuaddieren.

Fig. 92.



*Benedict*sche Lampe zur Verbrennung von Äther für die Prüfung der Leistungsfähigkeit kleiner Respirationsapparate.

Die Differenz zwischen den berechneten und den im Versuch gefundenen Werten, berechnet pro 100 *l* der Gase und 100 *g* Wasserdampf geben den prozentualen Fehler des Kontrollversuches an.

Für Kontrollbestimmungen bei einem sehr kleinen Apparat mit sehr geringem Volumen eignet sich besonders gut die in Fig 92 abgebildete Vorrichtung von *Benedict*[1]) zur Verbrennung von Äther.

Dieser befindet sich im Glasgefäß *G*. Die Dämpfe gelangen unter Anwendung eines Über-

[1]) Americ. Journal of physiol. Bd. **24**. S. 372 (1909).

druckes von Luft bei H in den Brenner D, in welchem sie elektrisch entzündet werden und in dem Luftstrom der bei B einströmenden Ventilationsluft verbrennen. Die heiße Luft wird durch Wasserspülung im Luftrohr I abgekühlt und gelangt dann bei C in den zu prüfenden Apparat.

Am Ende eines Versuches werden die Hähne bei G geschlossen, die noch im Apparat vorhandenen Ätherdämpfe verbrennen und die bei der Verbrennung entstandene Kohlensäure wird quantitativ durch die Ventilationsluft in den Apparat hineingespült. Der Gewichtsverlust von G gibt die Menge verbrannten Äthers an. Die aus der Formel zu berechnenden Mengen CO_2 und O_2 werden dann mit dem im Experiment gefundenen Werten verglichen.

Statt Substanzen bekannter Zusammensetzung in den Respirationsapparaten vollständig zu verbrennen, kann man auch, wie *Tangl*[1] es kürzlich empfohlen hat, Kohlensäure aus einer Bombe einleiten und bestimmen, ob der gefundene Wert mit dem aus der Gewichtsabnahme der Bombe berechneten Werte genau übereinstimmt. Natürlich muß die Zusammensetzung der Bombenluft genau bekannt sein.

In analoger Weise könnte man auch Sauerstoff direkt in den Apparat aus einer Bombe eingeben und bestimmen, ob die Zunahme des Sauerstoffgehaltes der Luft der eingeleiteten Menge entspricht. Dies Verfahren käme natürlich nur für offene Apparate in Betracht, d. h. solche, in denen nicht wie in denjenigen nach dem Prinzipe von *Regnault* und *Reiset* die Luft in einem geschlossenen Rohrsysteme kreist.

---

[1]) Biochem. Zeitschr. Bd. **44**. S. 247 u. ff. (1912).

Die Präzipitine und die Methoden der Präzipitation.

Von **Hermann Dold**, Straßburg.

Einleitung.

Im Folgenden soll eine Darstellung der Präzipitine und Präzipitationsmethoden mit besonderer Berücksichtigung der praktischen und arbeitstechnischen Gesichtspunkte gegeben werden.

Der Stoff gliedert sich zweckmäßig in zwei kleinere Abschnitte: *a)* Geschichtliches und *b)* Theoretisches über Präzipitinogene, Präzipitine und Präzipitate und einen dritten größeren Abschnitt *c)* die praktischen Anwendungsmöglichkeiten der Präzipitation.

In diesem letzteren Abschnitt sind:

1. die Methoden zum Nachweis und zur Differenzierung bakterieller und parasitärer Krankheitserreger.

2. die Methoden zum Nachweis und zur Differenzierung bakterieller Erkrankungen und

3. die Methoden zum Nachweis und zur Differenzierung pflanzlichen und tierischen Eiweißes im allgemeinen, und speziell von Blut und Fleisch zu besprechen.

Der vorliegenden Bearbeitung der Präzipitine und Präzipitationsmethoden sind hauptsächlich die ausgezeichnete und erschöpfende Darstellung desselben Gegenstandes durch *Uhlenhuth* und *Weidanz*[1], sowie die Arbeiten von *Nuttall*[2], *Wladimiroff*[3] und *R. Kraus*[4]) zugrunde gelegt. Bezüglich der sehr umfangreichen Literatur sei ebenfalls auf die genannten Werke verwiesen, welche vollständige Literaturverzeichnisse enthalten.

---

[1]) *Uhlenhuth* und *Weidanz*, Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens mit besonderer Berücksichtigung der forensischen Blut- und Fleischuntersuchung sowie der Gewinnung präzipitierender Sera. G. Fischer. Jena 1909.

[2]) *G. H. F. Nuttall*, Blood-immunity. C. J. Clay & Sons. London 1904.

[3]) *Wladimiroff*, Handbuch der Technik und Methodik *(Kraus-Levaditi)*, Ergänzungsband.

[4]) *R. Kraus*, Über spezifische Niederschläge (Präzipitine) in *Kolle-Wassermann*, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen (1904 u. 1912).

A. Geschichtliches.

Zum besseren Verständnis des gegenwärtigen Standes unserer Kenntnisse über die Präzipitine und die Methoden der Präzipitation seien kurz die Marksteine in der Entwicklung der Präzipitinforschung skizziert.

Bald nach der Entdeckung der Agglutinine durch *Gruber* und *Durham* (1896), jener in den Antiseris enthaltenen Immunstoffe, welche eine Zusammenballung und Ausflockung der homologen Bakterien bewirken, zeigte *R. Kraus*[1]), daß solche Antisera auch die Fähigkeit besitzen, in Filtraten der homologen Bakterienarten Niederschläge zu erzeugen, eine Beobachtung, die bald von verschiedenen Seiten bestätigt wurde [*Nicolle*[2]) u. a.]. *Wladimiroff*[3]) und später *Markl*[4]) benutzten dann die *Kraus*sche Entdeckung zu diagnostischen Zwecken, indem sie zeigen konnten, daß das Serum rotz- bzw. pestkranker Tiere in Filtraten von Rotz- bzw. Pestbazillenkulturen spezifische Niederschläge erzeugte. *Kraus*[5]) selbst hat weiterhin die Bakterienpräzipitine in ausgedehnter Weise zur Unterscheidung ähnlicher Bakterienarten herangezogen. In neueren Arbeiten ist von verschiedenen Forschern ([*Fornet*[6]), *Bonome*[7]), *v. Eisler* und *Porges*[8]), *Welsh* und *Chapman*[9]), *Pfeiler*[10]), *Miesner*[11]), *Ascoli*[12])] die alte Idee von *Kraus* und *Wladimiroff* wieder aufgenommen und angegeben worden, daß man mit Hilfe der Präzipitinreaktion bakterielle Erkrankungen (Typhus, Lues, Scharlach, Masern, Rotz, Milzbrand u. a.) und bakterielle Krankheitserreger (Typhus, Cholera, Pest, Milzbrand u. a.) mehr oder weniger sicher erkennen kann. Auf die von *Ascoli* und *Valenti* ausgearbeitete Methode

---

[1]) *R. Kraus,* Über spezifische Reaktionen in keimfreien Filtraten aus Cholera-, Typhus-, Pestbazillenkulturen, erzeugt durch homologes Serum. Wiener klin. Wochenschr. Nr. 32 (1897).

[2]) *Nicolle,* Recherches sur la substance agglutinée. Ann. de l'Inst. Pasteur. Mars (1898 u. 1899).

[3]) *A. Wladimiroff,* Über Agglutination bakterienfreier Filtrate von Rotzkulturen St. Petersburger med. Wochenschr. (1900). — Derselbe, St. Petersburger med. Wochenschrift (1898 u. 1900) und *Kolle-Wassermann,* Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Ergänzungsband.

[4]) *Markl,* Zentralbl. f. Bakt. Orig. Bd. **29** (1901).

[5]) *R. Kraus,* Wiener klin. Wochenschr. Nr. 29 (1901).

[6]) *Fornet,* Zentralbl. f. Bakt. Orig. Bd. **43**. H. 8. — Derselbe, Münchener med. Wochenschr. Nr. 38 (1906). — *Fornet* und *Schereschewski,* Münchener med. Wochenschr. Nr. 30 (1907). — *Fornet, Schereschewski, Eisenzimmer, Roser,* Deutsche med. Wochenschrift Nr. 41 (1907).

[7]) *Bonome,* Zentralbl. f. Bakt. Orig. Bd. **43**. H. 4 (1907).

[8]) *v. Eisler,* Wiener klin. Wochenschr. Nr. 13 (1907). — *v. Eisler* und *Porges,* Zentralbl. f. Bakt. Orig. (1906).

[9]) *Welsh* and *Chapman,* Proc. Royal Soc. B. Vol. **78** (1906). — Dieselben, Lancet. Vol. **1**. p. 1338 (1908).

[10]) *W. Pfeiler,* Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde. Bd. **34** u. **35** (1908).

[11]) *Miesner,* Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. **51** (1908).

[12]) *Ascoli* und *Valenti,* La clinica vet. Vol. **33**. p. 329 (1910). — Dieselben, Zeitschr. f. Infektionskrankheiten der Haustiere. Bd. **7**. H. 5/6 (1910).

der Milzbranddiagnose aus Organen mit Hilfe der Präzipitation soll, ebenso wie auf die Rotzdiagnose nach *Wladimiroff* u. a. weiter unten eingegangen werden. Einen großen Fortschritt bedeutete es, als es *Tchistovitch*[1] und *Bordet*[2] im Jahre 1899 gelang, auch mit tierischen Eiweißkörpern Präzipitine zu erzeugen (Serum von Kaninchen, die mit Pferde- oder Aalserum vorbehandelt waren, rief in Pferde- bzw. Aalserum einen Niederschlag hervor) und zu zeigen, daß auch diese Serumpräzipitine spezifisch waren. In der Folgezeit wurden analoge Versuche mit verschiedenen tierischen Eiweißarten angestellt. So konnten *Bordet*[3] und später *Fish*[4], sowie *Wassermann* und *Schütze*[5] durch Vorbehandlung von Kaninchen mit Milch Sera erzeugen, welche das Kasein der betreffenden Milchart ausfällten und so zur Differenzierung der verschiedenen Milch-Eiweißarten benutzt werden konnten.

Ehrlich, Myers und *Uhlenhuth* stellten in analoger Weise Präzipitine für Eiereiweiß her und *Uhlenhuths*[6] weitere Untersuchungen erwiesen die Möglichkeit, mit Hilfe dieser spezifischen Reaktion die Eiweißstoffe verschiedener Vogeleier zu unterscheiden, sowie die Eiereiweißpräparate des Handels zu kontrollieren.

Er konnte weiterhin im Verlauf seiner Arbeiten die biologisch höchst interessante Tatsache feststellen, daß man mit dieser Reaktion auch Eiweißkörper eines und desselben Tieres und Individuums, das Hühnereieiweiß vom Hühnerbluteiweiß, unterscheiden kann.

Von enormer praktischer Bedeutung wurde dann das von *Uhlenhuth*[7] und bald darauf auch von *Wassermann* und *Schütze*[8] ange-

[1]) *Tchistovitch*, Études sur l'immunisation contre le sérum d'anguille. Ann. Pasteur. p. 406 (1899).

[2]) *Bordet*, Sur l'agglutination et dissolution des globules rouges. Ann. Pasteur. p. 173 (1899).

[3]) *Bordet*, Les sérums hémolytiques, leur antitoxins et les théories des sérums cytolytiques. Ibid. p. 257—296 (1900). — Derselbe. Bull. Soc. Roy. Science Méd. et Nat. Bruxelles. T. **59**. p. 174.

[4]) *Fish*, Studies on lactoserum and other Cellsera. Courier of med. St. Louis. Febr. 1900.

[5]) *Wassermann* und *Schütze*, Deutsche med. Wochenschr. Nr. 30. Ver.-Beilage. S. 178 (1900).

[6]) *Uhlenhuth*, Neuer Beitrag zum spezifischen Nachweis von Eiweiß auf biologischem Wege. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 46 (1900).

[7]) *Uhlenhuth*, Eine Methode zur Unterscheidung der verschiedenen Blutarten, insbesondere zum differentialdiagnostischen Nachweis des Menschenblutes. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 6 (1901). — Derselbe, Weitere Mitteilungen über meine Methode zum Nachweis von Menschenblut. Deutsche med. Wochenschr. S. 260 (1901). — Derselbe, Weitere Mitteilungen über die praktische Anwendung etc. Deutsche med. Wochenskrift. Nr. 30 (1901).

[8]) *Wassermann* und *Schütze*, Über eine neue forensische Methode zur Untersuchung von Menschen- und Tierblut. Berliner klin. Wochenschr. Nr. 7 (1901); Physiol. Ges. Berlin. 8. Februar 1901. — Dieselben, Über die Entwicklung der biologischen Methode zur Unterscheidung von menschlichem und tierischem Eiweiß mittelst Präzipitin. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 27 (1902).

gebene, auf der Präzipitinreaktion beruhende Verfahren zur Unterscheidung der verschiedenen Blutarten, ein Verfahren, dessen Brauchbarkeit von *Uhlenhuth* und nach ihm von einer großen Reihe von Autoren [*G. Hauser*[1]), *Binda*[2]), *Biondi*[3]), *Dieudonné*[4]), *Stern*[5]), *Ziemke*[6]), *Praum*[7]), *Mertens*[8]), *Nuttall*[9]), *Graham-Smith*[10]), *St. Minovici*[11])], vor allem aber von *Uhlenhuth* selbst in Gemeinschaft mit *Beumer*[12]) und *Weidanz*[13]) bis ins Kleinste geprüft wurde, so daß es jetzt eine hervorragende Rolle in der gerichtlichen Medizin spielt. *Uhlenhuth*[14, 15]) hat bald darauf den Kreis der praktischen Verwertung dieser Reaktion noch weiter gezogen, indem er eine Methode zur Unterscheidung der verschiedenen Fleischsorten ausarbeitete, welche für die Fleischbeschau von großer Bedeutung geworden ist.

Bei der Ausarbeitung der Präzipitinreaktion für forensische Zwecke zeigte sich, daß dieser Reaktion eine Spezifität nur bei Berücksichtigung quantitativer Verhältnisse zukommt und daß die Antisera nicht bloß mit den homologen Seris, sondern auch mit den Seris (dem Eiweiß) verwandter Tierarten einen Niederschlag gaben. Es konnten also, wie *Uhlenhuth*[16, 17])

---

1) *G. Hauser*, Über einige Erfahrungen der serodiagnostischen Methode für gerichtliche Blutuntersuchungen. Münchener med. Wochenschr. Nr. 7 (1904).

2) *Binda*, Giornale di medic. legale. Nr. 2 (1901).

3) *Biondi*, Vierteljahrschr. f. ger. Med. u. öff. Sanitätsw. 3. Folge. Bd. 23 (1902).

4) *Dieudonné*, Beiträge zum biologischen Nachweis von Menschenblut. Münchener med. Wochenschr. Nr. 14 (1901).

5) *Stern*, Über den Nachweis des menschlichen Blutes durch ein Antiserum. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 9 (1901).

6) *Ziemke*, Zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut mit Hilfe eines spezifischen Serums. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 26. 42 (1901). — Derselbe, Weitere Mitteilungen über die Unterscheidung von Menschen- und Tierblut usw. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 42 (1901).

7) *Praum*, Annales d'hygiène publ. et de méd. légale (1906).

8) *Mertens*, Ein biologischer Nachweis für die Herkunft des Albumins im Nephritisharn aus dem Blute. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 11 (1901).

9) *Nuttall*, Progress report upon the biological test for blood etc. Brit. med. Journ. 5. April 1902. — Derselbe, The new biological test for blood. . . . Proc. of the R. soc. 69 (1901).

10) *Graham-Smith*, The biological or Precipitin test for blood considered mainly from its medico legal aspect. Journ. of the hyg. Vol. 3. p. 258—291.

11) *St. Minovici*, Über die neue Methode zur Untersuchung des Blutes mittelst Serum. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 24 (1902); Verhandl. d. internat. Kongr. f. allg. Chemie. Berlin 1903.

12) *Uhlenhuth* u. *Beumer*, Zeitschr. f. Medizinalbeamte. Nr. 5 u. 6 (1902).

13) *Uhlenhuth* u. *Weidanz*, *Kraus* und *Levaditis* Handbuch. Bd. 2. S. 721 ff. (1909).

14) *Uhlenhuth*, Die Unterscheidung des Fleisches verschiedener Tiere mit Hilfe spezifischer Sera und die praktische Anwendung der Methode in der Fleischbeschau. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 45 (1901).

15) *Uhlenhuth*, *Weidanz* und *Wedemann*, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 28. H. 3 (1908).

16) *Uhlenhuth*, 35. Jahresversammlung der deutschen anthropologischen Gesellschaft. Greifswald. August 1904.

17) *Uhlenhuth*, Deutsche Ges. f. Züchtungskunde. Februar 1907.

Wassermann, Nuttall[1], *v. Dungern*[2] zeigten, durch diese Reaktion die verwandtschaftlichen Beziehungen unter den Tieren zum sichtbaren Ausdruck gebracht werden und so z. B. auch ein biologischer Beweis für die nahe Verwandtschaft von Mensch und Affe gefunden werden. *Nuttall* und *GrahamSmith*[3] haben sogar in einem groß angelegten Werke mit Hilfe dieser Reaktion ein biologisches System der ganzen Tierreihe aufzustellen versucht.

Um das einigermaßen störende Moment der Verwandtschaftsreaktion zu umgehen, wurde von *Uhlenhuth*[4] die Methode der „kreuzweisen Immunisierung", von *Weichardt*[5] die Methode der „elektiven Absättigung" angegeben, auf die später näher eingegangen werden soll.

In der Folgezeit wurde die Präzipitinereaktion noch in zahllosen Arbeiten zur biologischen Differenzierung der verschiedenen Eiweißarten eines und desselben Individuums benutzt. So wurde die Möglichkeit einer biologischen Differenzierung der durch fraktionierte Ausfällung gewonnenen, chemisch differenten Eiweißkörper (Euglobulin, Pseudoglobulin, Albumin) untersucht [*Obermeyer* und *Pick*[6], *Rostoski*[7], *Umber*[8], *Oppenheimer*[9], *L. Michaelis*[10], *Landsteiner* und *Calvo*[11] u. a.], ohne daß die Frage dadurch zu einer Entscheidung gebracht wurde. Dagegen ist eine biologische Unterscheidung der einzelnen Organeiweißsubstanzen eines und desselben Individuums (Eiklar, Eidotter, Erythrozyteneiweiß, Serumeiweiß, Leber, Niere, Milz, Sperma etc.) nach den Angaben der meisten Autoren bei Beobachtung gewisser Kautelen (vollständige Entfernung des anhaftenden Serums) und bei Anwendung besonderer Methoden (elektive Absättigung)

---

[1]) *Nuttall* and *Graham-Smith*, Blood-immunity and blood relationship etc. C. J. Clay & Sons. London 1904.

[2]) *v. Dungern*, Die Antikörper. Jena. Verlag von G. Fischer. 1903.

[3]) *Nuttall* and *Graham-Smith*, Blood immunity and blood relationship etc. C. J. Clay & Sons. London 1904.

[4]) *Uhlenhuth*, Verh. d. 77. Jahresvers. deutscher Naturf. u. Ärzte, Meran 1905.

[5]) *Weichardt*, Hyg. Rundschau. Nr. 13 (1903).

[6]) *Obermeyer* und *Pick*, Biol.-chem. Studie über das Eiklar. Wiener klin. Rundschau. Nr. 15 (1902). — Dieselben, Über den Einfluß physikalischer und chemischer Zustandsänderungen usw. Wiener klin. Wochenschr. Nr. 22 (1902). — Dieselben, Beiträge zur Kenntnis der Präzipitinbildung. Wiener klin. Wochenschr. Nr. 10 (1904); Wiener klin. Wochenschr. S. 327 (1906).

[7]) *Rostoski*, Zur Kenntnis der Präzipitine. A. Hubers Verlag. Würzburg 1902. — Derselbe, Über den Wert der Präzipitinreaktion als Unterscheidungsmittel für Eiweiß. Münchener med. Wochenschr. (1902); Deutsche med. Wochenschr. Nr. 5 (1903).

[8]) *Umber*, Zur Chemie und Biologie des Eiweißes. Berliner klin. Wochenschr. (1902).

[9]) *Oppenheimer*, Über Einwirkung des Trypsins auf die Präzipitinreaktion. *Hofmeisters* Beitr. zur chem. Phys. u. Path. (1903). — Derselbe, Über das Schicksal der mit Umgehung des Darmkanals eingeführten Eiweißkörper im Tierkörper. Ebenda (1903).

[10]) *Michaelis*, Untersuchungen über Eiweißpräzipitine. Verhandl. d. Ver. f. innere Med. (1901/1902); Zentralbl. f. Bakt. Bd. 32; Deutsche med. Wochenschr. Nr. 41 (1902); Berliner klin. Wochenschr. Nr. 21 (1902).

[11]) *Landsteiner* und *Calvo*, Zur Kenntnis der Reaktionen des normalen Pferdeserums. Zentralbl. f. Bakt.

bis zu einem gewissen Grade möglich [*Uhlenhuth*[1]), *Ottolenghi*[2]), *Schütze*[3]), *A. Klein*[4]), *C. Bruck*[5]), *Weichardt*[6]), *Liepmann*[7]), *Maragliano*[8]), *Strube*[9]), *Forssner*[10]), *Grund*[11]), *H. Pfeiffer*[12])].

Aus der Reihe dieser Untersuchungen hebt sich als die biologisch interessanteste die von *Uhlenhuth* gemachte Feststellung, daß das Eiweiß der Linse nicht nur von dem des Glaskörpers und Kammerwassers, sondern auch von dem des Blutes und aller anderen Organe verschieden ist und daß die Linsen der Säugetiere, Vögel und Amphibien zum Teil gleichartige Eiweißsubstanzen enthalten, die sich in ganz minimalen Spuren auch in denen der Fische nachweisen lassen.

Endlich wurde die Präzipitinreaktion noch in ausgedehnter Weise für die Untersuchung von Nahrungsmitteln und Nährpräparaten im weitesten Sinne herangezogen (Milch-, Mehl-, Fleisch-, Eierpräparate, Kaviar u. a.), ferner für Fragen der Pathologie (Nachweis von Spuren von Eiweiß im Urin) und der Ernährungsphysiologie (Mechanismus der Eiweißverdauung, Übertritt von Eiweiß ins Blut etc.) nutzbar gemacht.

In neuerer Zeit haben die Bakterienpräzipitine wieder an Interesse gewonnen, seit wir aus den Arbeiten von *Wladimiroff*[13]), *Pfeiler*[14]), *Miesner*[15]) u. a. erfahren haben, daß man mit Hilfe der Präzipitation den

---

[1]) *Uhlenhuth*, Festschrift f. *Robert Koch*. 1903. — Derselbe, *Eulenburgs* Enzyklopädische Jahrbücher. Neue Folge. Bd. 2 (1904).

[2]) *Ottolenghi*, Siena. Ser. IV. Vol. 14 (1902). — Derselbe, Wiener klin. Wochenschrift. Nr. 29 (1906).

[3]) *Schütze*, Über ein biologisches Verfahren zur Differenzierung der Eiweißstoffe verschiedener Milcharten. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 36 (1901). — Derselbe, Weitere Beiträge zum Nachweis verschiedener Eiweißarten auf biologischem Wege. Ebenda. Bd. 38 (1901). — Derselbe, Über Antilaktoserum (Antipräzipitine). Vereinsbl. d. Deutschen med. Wochenschr. Nr. 1 (1902). — Derselbe, Festschrift für *v. Leyden*. 1902. — Derselbe, Über weitere Anwendung der Präzipitine. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 45 (1902).

[4]) *A. Klein*, Zur Kenntnis der Agglutinine und gewisser Präzipitine. Wiener klin. Wochenschr. Nr. 5/6 (1903).

[5]) *C. Bruck*, Berliner klin. Wochenschr. Nr. 26. S. 793 (1908).

[6]) *Weichardt*, Ann. de l'Institut Pasteur. Nr. 11 (1901). — Derselbe, Hyg. Rundschau. S. 491 (1903).

[7]) *Liepmann*, Über ein für menschliche Plazenta spez. Serum. Deutsche med. Wochenschr. (1903); La smaine méd. Nr. 13 (1902).

[8]) *Maragliano*, Gazz. d. Osp. Nr. 124 (1904). — Derselbe, Berliner klin. Wochenschrift. Nr. 27 (1904).

[9]) *Strube*, Beitr. zum Nachweis von Blut und Eiweiß auf biologischem Wege. Deutsche med. Wochenschr. Nr. 24 (1902).

[10]) *Forssner*, Münchener med. Wochenschr. Nr. 19 (1905).

[11]) *Grund*, Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. 87 (1906).

[12]) *H. Pfeiffer*, Verh. deutscher Naturforscher u. Ärzte. Meran 1905; Wiener klin. Wochenschr. Nr. 24 (1905).

[13]) *A. Wladimiroff*, Über Agglutination bakterienfreier Filtrate von [illegible]. St. Petersburger med. Wochenschr. (1900). — Derselbe, St. Petersburger med. Wochenschrift (1898 u. 1900) und *Kolle-Wassermann*, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Ergänzungsband. S. 394.

[14]) *W. Pfeiler*, Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde. Bd. 34 u. 35 (1908).

[15]) *Miesner*, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 51 (1908).

Rotz diagnostizieren kann, und aus den Arbeiten von *Ascoli* und *Valenti*[1]) u. a., daß man mit Hilfe von präzipitierenden Milzbrandantisera in Milzbrandorganen, selbst in altem verfaulten Material, wo andere diagnostische Mittel versagen, die Milzbrandinfektion noch nachweisen kann.

B. Präzipitinogene, Präzipitine und Präzipitate.

Unter „Präzipitaten" verstehen wir spezifische Niederschläge, welche beim Zusammenmischen eines Antiserums mit seinem homologen gelösten Antigen auftreten (z. B. beim Zusammenmischen von Choleraantiserum mit Cholerabazillenextrakten, von Menschenantiserum mit Menschenserum usw.).

Die bei dieser Reaktion beteiligte Komponente des Antiserums nennen wir Präzipitin (präzipitierende Substanz), die des Antigens Präzipitinogen oder präzipitable Substanz, obgleich nach Ansicht der meisten Autoren die letztere das aktive und die erstere das passive Agens bei der Reaktion darstellt.

Nach allem, was man von den anderen im tierischen Organismus während einer Immunisierung auftretenden Antikörpern (Agglutinine, Lysine, Antitoxine) weiß, muß man annehmen, daß auch die Präzipitine schon normaliter teils frei, teils an die Organe gebunden in geringer Menge vorhanden sind.

Sie treten aber in bedeutend vermehrter Menge im Verlaufe natürlicher bakterieller Erkrankungen als Reaktionsprodukte auf und lassen sich auch **künstlich** durch geeignete Vorbehandlung erzeugen.

Diese in der Bildung von Präzipitinen bestehende Reaktion des tierischen Organismus ist im allgemeinen um so stärker, je artfremder das eingeführte Eiweiß für das betreffende Tier ist. Es ist möglich, durch Einführung mehrerer heterogener Proteine in die Blutbahn eines geeigneten Versuchstieres (Kaninchen) ein spezifisches polyvalentes Antiserum herzustellen, d. h. gleichzeitig gegen mehrere Eiweißarten Präzipitine zu gewinnen, die allerdings meist nicht gleichwertig sind (*Strzyzowski*).

Jedes Eiweiß (Pflanzeneiweiß, Bakterieneiweiß, tierisches Eiweiß) wirkt als ein Präzipitine erzeugendes Antigen, und zwar gilt dies nicht bloß für das native Eiweiß, sondern auch für mit Pepsin angedautes Eiweiß. Erst nach vollständiger Pepsinverdauung hört nach den Angaben der meisten Autoren diese Wirkung des Eiweißes auf den tierischen Organismus auf.

Einige Autoren berichten allerdings, durch Trypsinverdauung von Eiweiß (Eiklar, Rizin) Spaltprodukte erhalten zu haben, die kein Eiweiß mehr enthielten, aber doch noch Präzipitine im Organismus hervorzurufen imstande waren (*Obermayer* und *Pick*, *Jakoby*). Ebenso soll es möglich sein, noch mit gekochtem Eiweiß Präzipitine zu erzeugen („Hitze-Alkali-

[1]) *Ascoli* und *Valenti*, La clinica vet. Vol. 33, p. 329 (1910). — Dieselben, Zeitschr. f. Infektionskrankheiten der Haustiere. Bd. 7, H. 5/6 (1910).

präzipitine" *Schmidt*), welche mit in Natronlauge gelöstem, durch Hitze koaguliertem Eiweiß, das in Natronlauge gelöst wird, reagieren.

Auch scheint aus den vorliegenden Untersuchungen hervorzugehen, daß noch mit den einzelnen Eiweißfraktionen des Serums Präzipitine erzeugt werden können.

Nach *Kraus* ist die präzipitinogene Substanz des tierischen Organismus als zum Eiweißmolekül gehörig zu betrachten und ist gerade derjenige Teil des Eiweißmoleküls, welcher das biologisch Spezifische ausmacht.

Die präzipitinogenen Substanzen sind ebenso wie die später zu besprechenden Präzipitine komplex gebaut und bestehen aus einer bindenden und einer fällbaren bzw. fällenden Gruppe. Die letztere Gruppe ist chemisch-thermischen Einflüssen gegenüber labiler als die erstere.

Ein Präzipitinogen, dessen labilere, „fällbare" („fällende") Gruppe zerstört ist und demnach nur noch eine bindende Gruppe besitzt, wird **Präzipitoid** genannt, und zwar zum Unterschied von dem analog sich verhaltenden **Präzipitoid des Präzipitins**, das später besprochen werden soll, **Präzipitoid der präzipitinogenen Substanz**.

Zur Erzeugung von Präzipitinen ist die Intaktheit des Präzipitinogens nicht notwendig; es genügt das Vorhandensein der bindenden Gruppe. Die Bakterienpräzipitinogene sind äußeren Einflüssen, besonders der Hitze gegenüber viel widerstandsfähiger als die anderen Präzipitinogene.

Die präzipitinhaltigen Antisera können bei geeigneter Aufbewahrung ziemlich lange ihre Wirksamkeit behalten. In der Regel tritt allerdings eine allmähliche, mit dem Alter der Antisera fortschreitende Abschwächung ein.

Gelegentlich wird auch eine ganz **plötzliche** Abnahme des Präzipitingehaltes der Antisera beobachtet, ohne daß man den Grund hierfür einsehen könnte.

Durch $^1/_2$stündiges Erwärmen auf 70° C werden die Präzipitine unwirksam. Sie können auch, ähnlich wie die Toxine und Agglutinine, in eine inaktive Form übergehen, wo sie zwar die präzipitable Substanz des Antigens binden, aber nicht mehr fällen, ja sogar auch die Fällung durch nachträglich zugesetzte aktive Präzipitine verhindern. Man nimmt deswegen im Bau der Präzipitine (wie in dem der Agglutinine) zwei verschiedene Gruppen an, eine stabilere bindende und eine labilere fällende Gruppe und bezeichnet diese durch den Verlust der fällenden Gruppe zwar noch zur Bindung, aber nicht mehr zur Fällung der präzipitabeln Substanz befähigte, inaktive Form der Präzipitine als **Präzipitinoide** (analog den Toxoiden und Agglutinoiden).

Im übrigen wissen wir über die chemische Natur dieser Körper ebensowenig wie über die der anderen Antikörper.

Als wahrscheinliche **Bildungsstätte** der Präzipitine werden die Leukozyten betrachtet.

Das Auftreten spezifischer Präzipitine beginnt etwa am 5. Tage nach der Injektion des Präzipitinogens und erreicht das Maximum am [illegible]—8. Tage, worauf wieder eine allmähliche Abnahme zu konstatieren ist.

Gelegentlich soll es auch gelingen, mit artgleichem Eiweiß schwach präzipitierende Sera zu erzeugen; so berichtet *Schütze*, durch Vorbehandlung von 32 Kaninchen mit Kaninchenserum bei 2 Tieren ein Antiserum erzielt zu haben, welches in dem Serum einiger anderer Kaninchen einen Niederschlag erzeugte. Solche Präzipitine bezeichnet man als Isopräzipitine. Ihr Vorkommen wird von anderer Seite bestritten (*Uhlenhuth*).

Endlich gelingt es auch, durch Vorbehandlung von Tieren mit einem präzipitierenden Serum, Antipräzipitine (*Eisenberg*, *Schütze*) zu erzeugen, deren Zusatz die Wirkung der betreffenden Präzipitine aufhebt; für die Bakterienpräzipitine wird die Möglichkeit der Erzeugung von Antipräzipitinen allerdings bestritten (*Kraus*).

Die Präzipitine sind als den Agglutininen nahe verwandt zu betrachten.

Bei der Bildung des Präzipitats werden die Präzipitine gebunden, ähnlich wie die Agglutinine bei der Agglutinationsreaktion; die von dem Präzipitat durch Zentrifugieren befreite Flüssigkeit vermag in der homologen präzipitablen Substanz keinen Niederschlag mehr zu erzeugen.

Die Bildung des Niederschlages tritt je nach der Menge der vorhandenen reaktionsfähigen Substanzen mehr oder weniger rasch (d. h. momentan bis innerhalb 20—30 Minuten) ein.

Eine Ausnahme bilden die Niederschläge, die in Bakterienfiltraten entstehen; sie treten in der Regel erst nach einer bis mehreren Stunden auf. Die Reaktion ist für das Zustandekommen der Niederschläge von gewisser Bedeutung.

Bei saurer Reaktion treten die Niederschläge schneller und stärker auf; bei stärkerer alkalischer Reaktion erfolgt dagegen die Niederschlagsbildung langsamer und weniger ergiebig. Eine neutrale Reaktion ist im allgemeinen für die Bildung des Präzipitats günstig. Nach *Michaelis*, *v. Dungern*, *Rostoski*, *Eisenberg* u. a. vermag ein Überschuß des homologen unverdünnten Antigens eine Niederschlagsbildung zu hemmen. Eine bereits entstandene Trübung kann wieder zum Verschwinden gebracht werden, wenn nachträglich unverdünntes homologes Antiserum im Überschuß zugefügt wird („Spezifische Löslichkeit“, *Dehne*).

Was die Natur des Präzipitats betrifft, so weiß man, daß dasselbe aus Eiweißkörpern besteht, in Mineralsalzen und Soda unlöslich und gegenüber verdauenden Fermenten resistent ist; ferner daß es sich von den übrigen Eiweißkörpern durch das Fehlen einer Kohlenhydratgruppe unterscheidet.

Die Präzipitinreaktion ist nicht absolut, sondern nur unter Berücksichtigung quantitativer Verhältnisse spezifisch und verhält sich in dieser Beziehung wie die anderen Immunitätsreaktionen und speziell wie die Agglutininreaktion.

Besonders bei den Blutpräzipitinen spielt — wie wir später sehen werden — die Verwandtschaftsreaktion eine große Rolle, d. h. die Tatsache, daß die präzipitierenden Sera nicht bloß mit dem Blut (Eiweiß)

der homologen Tierart, sondern auch in geringerem Grade mit den verwandten Tierarten reagiert.

Um den in praxi unter Umständen störenden Faktor der Verwandtschaftsreaktion auszuschalten, hat *Weichardt*[1] die Methode der „elektiven Absättigung“ vorgeschlagen: das betreffende Antiserum wird mit dem Serum derjenigen verwandten Tierart, die man ausschalten will, eventuell mehrmals versetzt und das sich bildende Präzipitat wird abzentrifugiert. Ein solches Antiserum besitzt dann nur noch Präzipitine gegen die homologe Tierart und kann zur Unterscheidung der beiden verwandten Tierarten benützt werden.

Uhlenhuth[2] hat zur Differenzierung verwandter Tierarten die Methode der „kreuzweisen Immunisierung“ angegeben: Er behandelte die eine Tierart mit dem Eiweiß der anderen verwandten Tierart, die differenziert werden soll, vor und erzeugte so in vielen Fällen Antisera, welche nur mit dem Eiweiß der betreffenden verwandten Tierart reagierten.

Die bei der Präzipitation erfolgende Bindung zwischen Präzipitinogen und Präzipitin erfolgt nach einem eigentümlichen Gesetz, das sich nach *Kraus* folgendermaßen kurz ausdrücken läßt: Bei gleichbleibender Menge der präzipitinogenen Substanz und bei Zunahme des Präzipitins wächst die absolute Absorptionsgröße, während die relative fällt.

Die zur Präzipitatbildung führende Reaktion kann durch verschiedene Einflüsse gehemmt werden, und zwar kann man zwischen spezifischen und unspezifischen Hemmungen unterscheiden.

Die spezifischen Hemmungen der Präzipitinreaktion werden durch die früher genannten Präzipitoide bedingt, d. h. durch Präzipitinogene bzw. Präzipitine, welche ihre fällende bzw. fällbare Gruppe verloren und zugleich eine erhöhte Avidität gewonnen haben.

Die unspezifischen Hemmungen haben ihre Ursache in verschiedenen anderen Faktoren. Es ist festgestellt, daß normale Sera, Hämoglobin, Salze, ferner bestimmte Säure- und Alkaleszenzgrade den Ablauf der Reaktion hemmen.

C. Die praktischen Anwendungsmöglichkeiten der Präzipitinreaktion.

I. Nachweis und Differenzierung bakterieller Krankheitserreger

Die Präzipitine, deren Nachweis zuerst gelang, waren Bakterienpräzipitine.

R. Kraus hat im Jahre 1897 gezeigt, daß ein Immunserum in Filtraten von homologen Bakterienkulturen Niederschläge erzeugt, und daß

[1] *Weichardt*, Hyg. Rundschau. Nr. 13 (1903).

[2] *Uhlenhuth*, Verhandlungen der 77. Jahresversammlung Deutscher Naturforscher und Ärzte. Meran 1905.

diese Reaktion spezifisch ist. Choleraimmunserum gab nur in Cholerakulturfiltraten, Typhusimmunserum nur in Typhuskulturfiltraten usw. Niederschläge.

Damit war also die Möglichkeit gegeben, mit Hilfe dieser Präzipitine spezifische bakterielle Krankheitserreger zu ermitteln. Man braucht nur ein bekanntes Bakterienimmunserum mit dem Filtrat der fraglichen Bakterien zusammenzubringen und auf die Bildung eines Niederschlages zu achten. Das Auftreten eines Präzipitates beweist, daß die fraglichen Bakterien diejenigen sind, welche dem verwendeten Immunserum entsprechen, also bei Verwendung von Choleraimmunserum Cholerabazillen, bei Verwendung von Typhusimmunserum Typhusbazillen usw. Es reagieren die Präzipitine bei Berücksichtigung quantitativer Verhältnisse, d. h. bei höherer Verdünnung eben nur mit den homologen Präzipitinogenen, während allerdings bei niederen Verdünnungen auch Filtrate verwandter Stämme präzipitiert werden. Zur Differenzierung verwandter Arten müssen darum die quantitativen Verhältnisse der Reaktion herangezogen werden.

Die Präzipitinogene der Bakterien werden am besten und einfachsten so gewonnen, daß man wässerige Extrakte von mehrtägigen Bouillon- oder Agarkulturen durch die gewöhnlichen Bakterienfilter (*Berkefeld*, *Reichel*, *Pukall* usw.) filtriert.

Die präzipitinogene Substanz läßt sich mit Alkohol ausfällen (*Winterberg*, *Pick*). *Pick* hat folgendes Verfahren angegeben, um die präzipitinogene Substanz möglichst rein zu erhalten:

Man versetzt eine bestimmte Menge eines Bouillonfiltrates mit dem 6fachen Volum 95%igen Alkohols, bringt den entstandenen Niederschlag auf ein Filter, preßt gut ab, trocknet bei Zimmertemperatur und gewinnt so eine wasserlösliche, bräunliche Masse, welche das Präzipitinogen enthält. Um die Substanz noch reiner zu erhalten, wird die wässerige Lösung mit festem Ammonsulfat gesättigt. Der entstandene Niederschlag wird wieder in Wasser gelöst und wie früher ausgesalzen, der Niederschlag mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen und nach Abpressen im Wasser gelöst. Aus dieser Lösung wird durch wiederholten Zusatz von 95%igem Alkohol in einzelnen Fraktionen das überschüssige Ammonsulfat entfernt und endlich mit großem Überschuß von Alkohol ein Körper in geringer Menge ausgefällt, der sich in klebrigen, schleimigen Massen absondert. Dieser Körper ist wasserlöslich und enthält das Präzipitinogen. Zur Fällung dieser Substanz wird Bleizucker im Überschuß verwendet, da das Koagulin K. alkohollöslich ist. Der Niederschlag wird nunmehr so lange mit Wasser gewaschen, bis das Filtrat keine Biuretreaktion mehr gibt. Der gereinigte Niederschlag wird sodann mit einer schwachen Sodalösung digeriert, von dem ungelöst gebliebenen Anteil abfiltriert und die so erhaltene opaleszente Lösung im Pergamentschlauch dialysiert. Die wirksame Substanz bleibt zum größten Teil im Schlauchinhalt.

Für die Praxis wird nur die direkte Verwendung des Kulturfiltrates in Betracht kommen. Zu beachten ist, was schon früher hervorgehoben wurde, daß die Niederschläge bei den Bakterienpräzipitinen nicht sofort, sondern meist erst nach ein bis mehreren Stunden sichtbar werden. In der Regel ist die Reaktion nach 24 Stunden beendet, bei höheren Temperaturen (37°) tritt sie rascher ein als bei niederen.

Am besten verfährt man so, daß man die Mischungen (Präzipitin + Präzipitinogen) 24 Stunden lang im Eisschrank stehen läßt und dann abliest, und zwar verwendet man mit Vorteil die später noch zu besprechenden kleinen Reagenzröhrchen oder Kapillarröhrchen. Von jedem der beiden Komponenten der Reaktion, Immunserum (Präzipitin) und Kulturfiltrat (Präzipitinogen) gibt man gleiche Mengen 0·1—0·5 cm^3.

In jedem Falle müssen Kontrollen angesetzt werden: Die zu untersuchenden Bakterienfiltrate müssen für sich allein und mit Normalserum versetzt klar bleiben.

Diese diagnostische Bakterienpräzipitinreaktion spielt praktisch eine geringe Rolle, weil wir in der Agglutinationsreaktion eine der Präzipitinreaktion überlegene Methode haben.

II. Nachweis und Differenzierung spezifischer bakterieller und parasitärer Erkrankungen.

Bei der von *Kraus* entdeckten Bakterienpräzipitinreaktion wurden die im Serum immunisierter Tiere kreisenden Präzipitine zur Unterscheidung und Erkrankung von präzipitinogenen Substanzen benützt. *Fornet*[1]) hat nun umgekehrt versucht, die in einem infizierten tierischen Organismus kreisenden Präzipitinogene mit Hilfe von bekannten Präzipitinen zu erkennen. Es handelt sich also um eine Art Umkehrung der Reaktion und der Fragestellung. Diesen Versuch haben *Fornet* und seine Mitarbeiter *Schereschewsky*, *Eisenzimmer*, *Roser*, sowie *Michaelis*[2]) bei einer Reihe von Infektionen gemacht. Sie konnten im Blut von mit Typhusbazillen infizierten Kaninchen sowie im Blute von Typhuskranken (in einigen Fällen auch im Stuhl und Harn) frühzeitig, zu einer Zeit, wo andere zur Diagnose verwendbare Immunstoffe (Agglutinine) noch nicht vorhanden waren, Typhuspräzipitinogene nachweisen und so die Diagnose Typhus stellen. Auch bei anderen Erkrankungen wie Scharlach, Masern, Tuberkulose, Lues, Tabes und Paralyse soll ihnen mit Hilfe der Präzipitationsreaktion der Nachweis der spezifischen Präzipitinogene und damit die Stellung der Diagnose geglückt sein.

Die Methode hat allerdings für die Diagnose der genannten Krankheiten bisher keine allgemeinere Anerkennung und Verwendung gefunden, teils, weil die Reaktion doch nicht mit der notwendigen Regelmäßigkeit eintritt und von einigen Nachuntersuchern nicht bestätigt werden konnte, teils, weil wir andere diagnostische Reaktionen haben, die jener praktisch überlegen sind. Immerhin ist es möglich, daß diese Reaktion bei genauerem Studium und weiterer methodischer Ausarbeitung eine größere Bedeutung erlangen könnte.

---

[1]) *Fornet*, Zentralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 43, H. 8; Münchener med. Wochenschr. Nr. 38 (1906). — *Fornet* und *Schereschewski*, Münchener med. Wochenschr. Nr. 30 (1907). — *Fornet*, *Schereschewski*, *Eisenzimmer*, *Roser*, Deutsche med. Wochenschr. Nr. 41 (1907).

[2]) *L. Michaelis*, Berliner klin. Wochenschr. Nr. 46 (1907).

Die Technik der Präzipitatreaktion ist nach *Fornet* wie folgt:

„Die Blutgewinnung geschieht entweder durch Venaepunktion oder durch Stich in die Fingerbeere mit der *Franke*schen Blutnadel; durch kräftiges Schwingen des ganzen Armes oder durch Anwendung der *Bier*schen Stauung erhält man auf diese Weise bequem ganz erhebliche Mengen Blut. Das Blut wird in Zentrifugiergläsern aufgefangen, sofort nach der Gerinnung mittelst Platinnadeln von der Wand des Glases abgelöst, zentrifugiert und in ein zweites steriles Gläschen übergegossen. Es dürfen nur vollkommen klare Sera verwendet werden, stark hämolytische Sera sind ebenfalls zu verwerfen. Zur Erzielung klarer Sera empfiehlt es sich, die Blutentnahme frühmorgens vorzunehmen; häufig können etwaige, trotz allem vorhandene Trübungen durch scharfes Zentrifugieren oder durch Filtration (Papier, *Schleicher & Schüll*, Nr. 602) entfernt werden. Die klaren Sera werden nun mittelst einer sterilen *Pasteur*schen Kapillarpipette, welche mit einem kleinen Gummiball versehen ist, in 8 *cm* hohen und 0·5 *cm* weiten Gläschen vorsichtig übereinander geschichtet. Stehen größere Serummengen zur Verfügung, so geschieht dasselbe mittelst graduierter Pipetten, aus denen je 0·15 cm^3 in 7 cm^3 hohe und 0·8 *cm* weite Gläschen gegeben wird. Je 20 Gläschen stehen zweckmäßig in einem schwarzen Holzgestell, an dessen Rückseite ein schwarzer Tuchstreifen in beliebiger Höhe verstellbar ist. Ein an beiden Kurzseiten angebrachter Querstab schützt das Gestell vor dem Umfallen und gestattet gleichzeitig, allen Gläschen eine für das Eintropfen des zu überschichtenden Serums besonders geeignete Neigung von etwa 45° zu geben. Jedes Serum gelangt sowohl unverdünnt, als auch in einer mit physiologischer Kochsalzlösung (0·85%) hergestellten Verdünnung von 1 : 5 und 1 : 10 zur Verwendung. Um eine möglichst scharfe Schichtung zu erzielen, läßt man das spezifisch leichtere Serum vorsichtig an der Wand des schräg gestellten Gläschens auf das schon vorher hineingegebene, spezifisch schwerere Serum herabfließen. Bei positivem Ausfall der Reaktion tritt dann entweder bald, oder aber spätestens innerhalb von 2 Stunden (bei Zimmertemperatur) an der Berührungsstelle der beiden Sera ein feiner Ring auf, welcher besonders deutlich wird, wenn man das direkt durchfallende Tageslicht noch durch ein schräg hinter die Gläschen gehaltenes schwarzes Papier abblendet. Durch den Aufenthalt der Gläschen im Brutschrank bei 37° scheint die Reaktion zuweilen beschleunigt zu werden.

Während für die oben genannten Krankheiten die Präzipitinreaktion keine praktische Bedeutung erlangt hat, wird sie für andere Krankheiten wie Rotz, Zerebrospinalmeningitis, Milzbrand und Schweinerotlauf diagnostisch verwertet.

Spezifische Präzipitine wurden im Blut rotzkranker Pferde zum erstenmal von *Dedjulin* und von *Wladimiroff*[1]) festgestellt und der letztere hat auch versucht, die im Serum solcher Tiere vorhandenen Rotzpräzipitine diagnostisch zu verwerten. Diese Rotzdiagnose ist dann weiterhin besonders durch *Pfeiler*[2]), *Miessner*[3]), *Müller*[4]) und *Koneff*[5]) weiter studiert und technisch ausgearbeitet worden.

Im Folgenden seien die Methoden der Rotzdiagnose nach *Pfeiler*, *Miessner*, *Müller* und *Koneff* wiedergegeben:

---

[1]) *Wladimiroff*, St. Petersburger med. Wochenschr. 1898, 1900 und *Kolle-Wassermann*, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Erg.-Bd. 1912.

[2]) *W. Pfeiler*, Archiv f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. **34**, **35** (1908).

[3]) *Miessner*, Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. **51** (1908).

[4]) *M. Müller*, Zeitschr. f. Immunitätsf. Abt. I. Orig. Bd. **3** (1909).

[5]) *D. F. Koneff*, Archiv f. Vet.-Wissenschaft (1908); Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. **55** (1910).

Methode von *Pfeiler:* Nach *Pfeiler* wird das fragliche Serum unverdünnt auf den Boden der *Uhlenhuth*-Röhrchen gegossen und mit dem Antigen überschichtet. Letzteres ist ein Extrakt von Rotzbazillen, der mit normalem Pferdeserum verdünnt ist, das „Reagierserum". Das zur Herstellung des Reagierserums erforderliche „Verdünnungsserum" darf an und für sich, über artgleiches Serum geschichtet, keine Ringbildung eintreten lassen.

Pfeiler empfiehlt „in Karbolkochsalzlösung oder karbolisiertem Pferdeserum hergestellte, filtrierte (ungebrauchte *Reichel*-Kerzen; mehrmals gebrauchte halten die Präzipitinogene zurück) Rotzbazillenextrakte" zu verwenden. Die Wirksamkeit dieser Extrakte hängt von ihrer Konzentration ab. Gut bewachsene *Kolle*sche Schalen werden mit 40—50 *cm*³ Karbolkochsalzlösung oder karbolisiertem Pferdeserum abgeschwemmt. Der filtrierte Schüttelextrakt wird mit der 6—12fachen Menge nicht zu alten unkarbolisierten Pferdeserums kurz vor dem Versuch verdünnt. Um dieses Reagierserum spezifisch leichter zu machen als die Proben, welche untersucht werden sollen, fügt er auf 1 *cm*³ Extrakt 1 *cm*³ Kochsalzlösung hinzu. Das Reagierserum trübt sich kurze Zeit nach der Mischung (Normalpräzipitation). Das Verfahren selbst gestaltet sich folgendermaßen: Es werden von jeder Serumprobe je 0·3 *cm*³ des nicht inaktivierten zu prüfenden Serums in zwei *Uhlenhuth*-Röhrchen gefüllt. Darauf läßt man aus einer Pipette mit $^1/_{100}$ *cm*³-Einteilung zunächst in ein Röhrchen (Prüfungsröhrchen) an die Innenfläche des oberen Randes des Röhrchens 0·04—0·05 *cm*³ des Reagierserums laufen. Man verschließt nun die obere Öffnung der Pipette so lange, bis der herunterlaufende Tropfen die Oberfläche des zu untersuchenden Serums erreicht hat. Erst dann wird wieder geöffnet. Langsam läßt man weitere 0·26 *cm*³ des Reagierserums an der Wand des Röhrchens auf das Serum fließen. Bei dieser Vorsicht wird das untere Serum kaum aufgewirbelt. Das Reagierserum schichtet sich scharf abgegrenzt auf das untere. Das zweite *Uhlenhuth*-Röhrchen wird in der gleichen Weise überschichtet, jedoch mit einem Gemisch von 2 Teilen Kochsalzlöung und 6—12 Teilen des Verdünnungsserums. Nur gut geschichtete Proben sind zu untersuchen. Man sieht in den Röhrchen dann oben eine schwach trübe, etwas graue, unten eine klare Serumschicht, die durch eine farblose, scheibenförmige Zone voneinander getrennt sind. Diese Zone ist das Merkmal der Reaktion und ist zu beobachten. Stark präzipitinhaltige Sera reagieren momentan (1—10 Minuten) durch die Bildung eines kräftigen grauen Ringes an der Berührungsstelle beider Sera. Die Proben werden bei Zimmertemperatur gehalten. Nach spätestens 1 Stunde muß das Ergebnis abgelesen werden. Nach dieser Zeit können auch Normalringe aufgetreten sein. Den zeitlichen Abschluß der Reaktion stellt man am besten so fest, daß man zunächst ein oder mehrere durch einen hohen Normalpräzipitingehalt ausgezeichnete Kontrollsera von nichtrotzigen Pferden überschichtet. Darauf erfolgt die Schichtung der neu zu untersuchenden Proben und nach 10 Minuten die der rotzigen Kontrollsera. Sind unter den zu

untersuchenden Proben Sera von Rotzpferden, so müssen diese deutliche Ringbildung, mindestens gleichzeitig mit den rotzigen Kontrollseris, aber lange vor dem eventuellen Auftreten der im übrigen nicht so scharf abgegrenzten schwächeren Normalringe zeigen. Als weitere Kontrollen sind, geschichtet über sämtliche Kontrollsera, je 0·3 *cm*³ des Verdünnungsserums + Kochsalzlösung und 0·6 *cm*³ des Verdünnungsserums allein anzusetzen. Ringbildung darf bei den Kontrollen nur in den Prüfungsröhrchen der Rotzsera eintreten. Die Grenzschicht jedes Prüfungsröhrchens und das dazugehörige Serumkontrollröhrchen muß miteinander verglichen werden. Es sei noch darauf aufmerksam gemacht, daß die echten Präzipitationsringe sich im Verlaufe von mehreren Stunden verbreitern, wobei sie ihre scharfe Abgrenzung verlieren. Sie sind als zonenförmige, unscharfe Trübungen gewöhnlich noch nach 12 und 24 Stunden zu erkennen, während die Normalringe schon nach 2—4 Stunden verschwunden zu sein pflegen. Ein Präzipitat findet sich selten am Boden der Prüfungsröhrchen. Auch dieses ist mit eventuellen Ausfällungen der Serumkontrollröhrchen, sowie der übrigen Kontrollen zu vergleichen."

Methode von *Miessner:* Nach *Miessner* wird das zu prüfende Serum ebenfalls unverdünnt in die *Uhlenhuth*schen Röhrchen (ca. 0·5 *cm*³) gebracht. Als Antigen wird eine Lösung des im Handel käuflichen Malleinum siccum *Foth* überschichtet. Dieses Präparat muß kurz vor dem Versuch in physiologischer Kochsalzlösung gelöst werden, und zwar eine Dosis (0·025 *g*) in 10 *cm*³ Flüssigkeit, stärkere Konzentrationen geben zuweilen auch mit normalen Seris Trübungen, während mit schwächeren der Präzipitationsring bei rotzigen Seris undeutlich ausfallen kann. Nach *Miessners* Versuchsanordnung bleiben die Röhrchen etwa 2 Stunden lang im Thermostaten bei 37°. Nach Ablauf dieser Zeit wird das Resultat festgestellt. „Im Falle einer Präzipitation entsteht an der Berührungsfläche der beiden Schichten ein trüber, ca. 1—1½ *mm* breiter Ring, welcher ausbleibt, wenn beide Flüssigkeiten nicht im Sinne der Präzipitation aufeinander einwirken." Der Ring bleibt ca. 20 Stunden lang bestehen. *Miessner* macht darauf aufmerksam, daß bei manchen Sera an der Berührungsfläche mit der Malleinlösung eine leicht getrübte Zone entsteht, welche sich jedoch durch ihre geringe Trübung und Schärfe wesentlich von dem eigentlichen Präzipitationsring unterscheidet. Das Alter des Serums und konservierende Zusätze (Karbol etc.) sollen keinen Einfluß auf den Ausfall der Reaktion haben.

Methode von *Müller: Müller* füllt in kleine Reagenzgläschen von 0·5 *cm*³ Weitendurchmesser zunächst ca. 6 Tropfen des spezifisch schwereren präzipitinhaltigen Serums und fügt hierauf vorsichtig die gleiche Menge des präzipitinogenhaltigen Bazillenextraktes zu. Zur Herstellung des letzteren werden dreitägige Glyzerinagarkulturen mit physiologischer NaCl-Lösung abgeschwemmt (5 *cm*³ auf eine gewöhnliche Reagenzglaskultur oder 20 *cm*³ auf eine Kultur in einer *Roux*schen Flasche) und die Emulsion nach 1—2tägigem Aufenthalt im Thermostaten durch Chamberlandkerzen fil-

triert. Der Präzipitinogengehalt in den Emulsionen nimmt bei Brutwärme bis zum 12. Tage zu, hält sich dann auf gleicher Höhe, um vom 30. Tage ab allmählich zu sinken. Schüttelextrakte eignen sich für die Präzipitationsreaktion weniger. Die überschichteten Röhrchen werden zunächst 5 Minuten bei Zimmertemperatur beobachtet. Die Reaktion tritt bei stark rotzpräzipitinhaltigem Serum momentan oder nach Ablauf weniger Minuten deutlich in Erscheinung und kann hiermit bereits als positiv angesprochen werden. Ist keine oder nur schwache Reaktion bemerkbar, so kommen die Eprouvetten 10—30 Minuten bei 37°, bleiben hierauf bei nicht einwandfreiem Ergebnis noch ca. 1 Stunde bei Zimmertemperatur zur weiteren Beobachtung und werden dann bis zum nächsten Tage im Eisschrank aufbewahrt, worauf unter kritischer Würdigung der gegebenen Befunde die definitive Beurteilung erfolgt. Als positive Reaktion bei der Schichtprobe sollen „nur jene ringförmigen Trübungen angesehen werden dürfen, die aus einem deckfarbenen weißgrauen Präzipitat in Scheibenform bestehen, während die durchsichtigen lackfarbenen, sich langsam abtönenden Ringe, die häufig beim Zusammentreffen heterologer Flüssigkeiten von verschiedener Färbung und Konzentration zu beobachten sind, als Reaktionen nicht angesprochen werden dürfen". Bei der Untersuchung von Serum aus den ersten Anfangsstadien der Rotzinfektion beobachtet man nach *Müller* das Auftreten von Doppelringen bei der Schichtprobe. „Der Doppelring kann aber nur dann als spezifisch angesehen werden, wenn derselbe bei exakter Überschichtung eines Serums ständig in Erscheinung tritt und zwischen den beiden Ringen eine völlig klare, ganz schmale Flüssigkeitsschicht von ca. $^1/_2$—1 *mm* Breite sich befindet." Als weitere nach 24 Stunden eintretende charakteristische Erscheinungen beim positiven Ausfall der Reaktion hebt *Müller* hervor: Schleierartige Präzipitatablagerung am Boden der Eprouvette und völlige Aufhellung der Flüssigkeit. Als Kontrolle dienen: Normalserum + Filtrat; Normalserum + physiologische NaCl-Lösung und Rotzserum + physiologische NaCl-Lösung, welche keine oder schwache Trübungen ohne Präzipitatbildung und Aufhellung nach 24 Stunden geben dürfen.

Methode von *Koneff*: Von *Koneff* ist als „Antigen" für die Präzipitationsprobe ein Präparat angegeben worden, welches er „Malease" nennt und in folgender Weise darstellt: Eintägige Agarrotzkulturen werden mit 3%iger Antiforminlösung (10 cm^3 pro Kulturröhrchen) abgeschwemmt, sorgfältig geschüttelt und 24 Stunden bei 38—40° C gehalten. Die erhaltene Lösung wird mit 5%iger Schwefelsäure — unter Benutzung von Lackmustinktur als Indikator — neutralisiert, zur Entfernung des Chlors nochmals auf 24 Stunden in den Thermostaten gestellt und darauf sukzessive durch Fließpapier und durch Berkefeldkerzen filtriert. Aus dem Filtrat kann durch Austrocknen bei 40° C ein lange haltbares Pulver gewonnen werden, welches vor dem Gebrauch in destilliertem Wasser (die Hälfte des Volumens des ursprünglichen Filtrates) gelöst und von neuem filtriert wird. Das Produkt ist eine klare, leichtgelbliche Flüssigkeit mit

schwachem Chlorgeruch. Ca. 1 *cm*³ dieser „Malease" wird in Glasröhrchen von 3—4 *mm* Durchmesser und 15 *cm* Länge gefüllt, hierauf ungefähr das gleiche Quantum des zu untersuchenden Serums unter das Antigen geschichtet. Zu diesem Zwecke bedient *Koneff* sich feiner Glaspipetten, welche er bei geschlossenem oberen Ende durch die Malease hindurch bis auf den Boden des Röhrchens führt und nach erfolgter Unterschichtung ebenso wieder herauszieht. Das Serum von Pferden mit schwerem Rotz gab momentane Bildung eines Präzipitationsringes; in leichten Fällen bildete sich ein solcher erst nach 5—15 Minuten. Dagegen blieb bei Benutzung von Serum gesunder bzw. an anderen Krankheiten leidender Pferde während der gleichen Beobachtungsdauer die Berührungsfläche der beiden klaren Flüssigkeiten ungetrübt sichtbar.

Von *Vincent* und *Bellot* [1] ist die Präzipitinreaktion auch für die Diagnose der Meningitis cerebrospinalis empfohlen worden.

Es werden zu 50—100 Tropfen der klar zentrifugierten Zerebrospinalflüssigkeit 1 Tropfen Meningokokkenserum gegeben; die Mischung wird bei 50—53° gehalten. Im positiven Fall trübt sich die Flüssigkeit nach 8—12 Stunden, während in Kontrollen (normale Spinalflüssigkeit und Spinalflüssigkeit von andersartiger Meningitis) keine Trübungen auftreten. Die Reaktion soll schon 11—13 Stunden nach Ausbruch der Erkrankung positiv sein und nach 12—20 Tagen wieder verschwinden. Zahlreiche Nachprüfungen haben eine Bestätigung dieser Angaben gebracht, wenn auch nicht alle Meningokokkensera gleich gut reagieren.

Ebenfalls auf dem Nachweis von Bakterienpräzipitinogen beruht die von *Ascoli* und *Valenti* [2] angegebene biologische Milzbranddiagnose. Es gelang ihnen durch geeignete Vorbehandlung von Tieren (Pferde, Esel) mit Milzbrandbazillen Antisera zu erhalten, welche in Extrakten von Milzbrandbazillen und -organen (Milz, Lunge, Leber, Niere, Nebenniere, Darm, Blut) Niederschläge hervorriefen. Diese Präzipitine traten erst nach Einführung großer Bakterienmengen und nicht in allen Fällen im Serum auf.

Die Technik der Reaktion ist wie folgt:

„Das verdächtige Organmaterial wird zerkleinert, mit Quarzsand verrieben und zur Gewinnung farbloser Extrakte erst mit Chloroform versetzt, gut durchgemischt und 6—12 Stunden stehen gelassen. Hierauf wird der Brei mit einer gewissen Menge physiologischer Kochsalzlösung versetzt, derart, daß bei der nach weiteren 6—12 Stunden vorzunehmenden wiederholten Filtration nur ein paar Kubikzentimeter Filtrat erhalten werden, das aber ganz klar und durchsichtig sein soll.

Die Reaktion wird in kleinen Röhrchen vorgenommen, indem man das ebenfalls vollkommen klare Serum unter den Auszug schichtet."

Ascoli empfiehlt den Auszug vor Anstellung der Reaktion im Verhältnis 1 : 10 mit physiologischer Kochsalzlösung zu verdünnen. Der Chloroformzusatz bei der Extraktion stört die Reaktion nicht.

Die Extrakte müssen im positiven Falle sofort mit dem spezifischen Immunserum eine charakteristische ringförmige Trübung geben, während

---

[1] *Vincent* und *Bellot*, Bull. soc. méd. des hôp. 1909.

[2] *Ascoli* und *Valenti*, La clinica vet. Vol. **33**. pag. 329 (1910). — Dieselben, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. Bd. **7**. H. 5/6 (1910).

sie mit dem entsprechenden Normalserum mindestens noch nach $^1/_4$ Stunde klar bleiben sollen. Wenn in Ausnahmefällen bei zu stark konzentrierten Extrakten auch mit Normalserum eine Trübung eintritt, so kann man durch geeignete Verdünnung des Extraktes Abhilfe schaffen.

Es scheint nicht möglich zu sein, präzipitierende Milzbrandantisera von derselben Wirksamkeit wie die präzipitierenden Eiweißsera herzustellen. Verdünnt man die Milzbrandantisera über 1 : 200, so fällt die Schichtprobe negativ aus, auch wenn man gesättigte Extrakte verwendet.

Die Reaktion ist nicht streng spezifisch, da sie auch in Extrakten milzbrandähnlicher Bakterien mehr oder weniger deutliche Niederschläge erzeugt, doch ist sie für praktisch diagnostische Zwecke insofern hinreichend spezifisch, als ein positiver Ausfall der Reaktion mit ziemlicher Sicherheit das Vorhandensein, ein negativer Ausfall mit absoluter Sicherheit das Fehlen einer Milzbrandinfektion anzeigt.

Das praktisch Wertvollste der Reaktion besteht darin, daß sie noch mit altem, verfaultem Organmaterial, bei dem die bisherigen bakteriologischen Methoden versagten, mit Erfolg angewendet werden kann.

Ascoli konnte später seine Reaktion noch wesentlich vereinfachen dadurch, daß er zeigte, daß die Extraktion des verdächtigen Materials rasch in der Siedehitze vorgenommen werden kann.

Diejenige Substanz, welche mit dem Antiserum spezifisch reagiert, also das Milzbrandpräzipitinogen, erwies sich, wie alle Bakterienpräzipitinogene *(Ch. Nicolle)*, als sehr resistent gegenüber höheren Temperaturen (längeres Kochen).

Die so modifizierte Schnellmethode erhielt den Namen Thermopräzipitinreaktion und wurde für den Praktiker noch weiter vereinfacht, durch eine Vorrichtung, welche gleichzeitig zur Filtration und automatischen Schichtung des Extraktes oberhalb des Serums dient. Die Vorrichtung (Fig. 93) besteht aus 2 Teilen:

1. Aus einem kleinen Standreagenzrohr, welches mit dem präzipitierenden Serum in der Weise beschickt wird, daß eventuelle Trübungen am Boden zurückgehalten werden.

2. Aus einem Trichter, welcher zur Filtrierung etwas Asbest enthält und in ein Kapillarrohr ausgeht, das, der Wand des Reagenzrohrs anliegend, das Filtrat über dem Serum schichtet.

Die Reaktion wird folgendermaßen ausgeführt:

1. Man füllt eine gewöhnliche Eprouvette zur Hälfte mit physiologischer Kochsalzlösung und bringt in letztere ein paar Gramm des zu untersuchenden Materials.

2. Man taucht die Eprouvette einige Minuten in siedendes Wasser und läßt sie dann erkalten, am schnellsten mittelst eines Wasserstrahles.

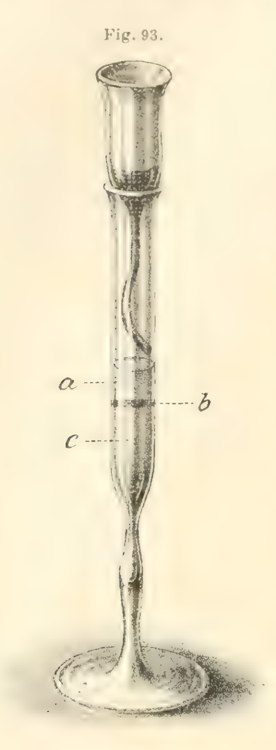
3. Man füllt die so erzielte Auskochung in den Trichter über und behält die Berührungsfläche zwischen Serum und Extrakt im Auge. Man nimmt zu dem Zwecke, sobald genug Extrakt filtriert ist, den Apparat in

die Rechte und beobachtet ihn gegen das Licht, indem man den linken Arm oder einen Fingernagel vorhält.

Wenn das Material von einem milzbrandigen Tiere stammt, so erscheint an der Berührungsstelle innerhalb weniger Minuten ein weißlicher, trüber Ring wie bei der *Müller*schen Eiweißprobe.

Die ganze Reaktion kann in $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde bequem ausgeführt werden. Die Firma *Gans* in Frankfurt a. M. liefert das *Ascoli*sche Milzbranddiagnostikum, welches alles für die Anstellung der Thermopräzipitinreaktion Erforderliche enthält.

Fig. 93.



Thermopräzipitation bei Milzbrand nach *Ascoli*.
a Extrakt, *b* Ringprobe, *c* präzipitierendes Serum.

Die Präzipitinreaktion nach dem *Ascoli*schen Muster ist auch bei anderen Krankheiten mit Erfolg diagnostisch angewendet worden, so beim Schweinerotlauf (*Ascoli*[1]) und bei Paratyphuserkrankungen (*Reinhardt*[2]), *Rothacker*[3]).

In ähnlicher Weise ist versucht worden, mit Hilfe der Präzipitinreaktion die Diagnose verschiedener parasitärer Erkrankungen (Echinokokken-, Botriocephalus-, Bandwurmerkrankung) zu stellen, indem man das Serum der betreffenden Patienten, in welchem man spezifische Präzipitine vermutete, mit Extrakten der fraglichen Parasiten zusammenmischte. Die Resultate waren aber recht unsicher, mit Ausnahme der Botriocephaluserkrankung, wo offenbar das Serum des Erkrankten Präzipitine enthält, die in dem aus Botriocephalusproglottiden hergestellten Safte einen Niederschlag erzeugen *(Isaak, van den Velden)*.

Auch für die Krebsdiagnose hat man die Präzipitinreaktion wiederholt zu verwerten gesucht, aber bis jetzt sind alle diese Versuche erfolglos geblieben.

III. Nachweis und Differenzierung spezifischen tierischen und pflanzlichen Eiweißes.

Eine allgemeinere Bedeutung hat die Präzipitinreaktion erhalten, als *Tchistovitch* sowie *Bordet* zeigten, daß der tierische Organismus nicht bloß auf die Einführung von Bakterieneiweiß, sondern auch auf die Injektion von tierischem Eiweiß mit der Bildung von Präzipitinen reagiert. Das Serum von Kaninchen, die mit Pferde- bzw. Aalserum bzw. defibriniertem

[1]) *Ascoli,* Berliner tierärztl. Wochenschr. (1912).
[2]) *Reinhardt,* Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. H. 3 (1912).
[3]) *Rothacker,* Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. **16**. H. 5/6 (1913).

Hühnerblut vorbehandelt waren, rief im Pferde- bzw. Aal- bzw. Hühnerserum Niederschläge hervor.

Die zahlreichen in der Folgezeit gemachten Untersuchungen ergaben dann auch, daß sich gegen jedes tierische und pflanzliche (auch höherpflanzliche) Eiweiß Präzipitine erzeugen lassen.

A. Nachweis und Differenzierung von pflanzlichem und tierischem Eiweiß im allgemeinen.

Es ist also in der Präzipitinreaktion ein Mittel gegeben, ganz allgemein jedes pflanzliche und tierische Eiweiß zu differenzieren. Das Prinzip besteht darin, daß man entweder das fragliche Eiweiß zur Erzeugung von Präzipitinen geeigneten Tieren in geeigneter Weise injiziert, dann das präzipitinhaltige Serum dieser Tiere mit bekannten Eiweißlösungen zusammenbringt und auf die Entstehung eines Niederschlages achtet, oder daß man das vermutete Eiweiß zur Erzeugung von Präzipitinen Tieren einspritzt, dann das präzipitinhaltige Serum dieser Tiere mit einer Lösung des fraglichen Eiweißes zusammenbringt und beobachtet, ob ein Niederschlag eintritt oder nicht. Wenn fertige präzipitierende Sera vorhanden sind, erübrigt sich die besondere Herstellung der Sera und die Prüfung kann sofort stattfinden.

Was im einzelnen die Methoden der Gewinnung der präzipitierenden Sera, der Herstellung der Eiweißextrakte, der Reaktion und die bei der Ausführung und Beurteilung der Reaktion zu beachtenden Punkte anlangt, so sei auf den folgenden spezielleren Abschnitt hingewiesen, in dem die Methoden des Nachweises und der Differenzierung von Blut und Fleisch abgehandelt sind. Das dort speziell für den Blut- und Fleischnachweis Gesagte gilt als allgemeine Richtschnur für jede Eiweißdifferenzierung.

Im konkreten Falle darf natürlich nicht nach einer starren Methode, sondern muß der Lage, den Möglichkeiten und Bedürfnissen des Falles entsprechend unter sinngemäßer Beachtung des im nächsten Abschnitt Gesagten verfahren werden.

B. Nachweis und Differenzierung von Blut und Fleisch.

Die große praktische Bedeutung, welche die Präzipitinreaktion heute besitzt, hat sie erst gewonnen, seit *Uhlenhuth* und seine Mitarbeiter sie zu einer exakten Methode zum forensischen Nachweis von Blut- und Eiweißarten, sowie zur Differenzierung von Fleischsorten (Erkennung von unerlaubten Fleischbeimengungen) ausarbeiteten. Die praktische Brauchbarkeit dieser Methode ist von zahlreichen Seiten nachgeprüft und anerkannt worden. Die Methode hat sich unter den verschiedensten Bedingungen der Praxis bewährt und spielt mit Recht eine große, oft ausschlaggebende Rolle in der gerichtlichen Medizin und in der Fleischbeschau.

Bei der großen Wichtigkeit der mit dieser Methode zu lösenden Fragen und der großen Verantwortung, welche der Gutachter zu tragen

hat, ist eine genaue Befolgung aller bei der Ausführung und Beurteilung der Reaktion zu beachtenden Punkte dringend zu raten.

Es seien darum im folgenden ausführlicher die Technik der Serumgewinnung, sowie der Gang einer Blut- und Fleischuntersuchung besprochen. Ich halte mich hier im wesentlichen an die Vorschriften, welche *Uhlenhuth* und *Weidanz* in ihrem Buche: „Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens mit besonderer Berücksichtigung der forensischen Blut- und Fleischuntersuchung sowie der Gewinnung präzipitierender Sera“ geben.

Technik der Serumgewinnung.[1]

Zur Erzeugung hochwertiger präzipitierender Sera eignen sich am besten Kaninchen. Hühner liefern zwar nach den Untersuchungen *Uhlenhuths* ebenfalls gute präzipitierende Sera, aber sie kommen aus verschiedenen naheliegenden Gründen für die praktische Serumgewinnung weniger in Betracht als die Kaninchen. Andere Tiere, wie Meerschweinchen, Hunde, Schafe, Ziegen, Esel, Pferde erwiesen sich für die Herstellung präzipitierender Sera wenig geeignet; Kaltblüter liefern nach den Untersuchungen von *v. Dungern* u. a. überhaupt keine Präzipitine.

Es bleiben also als geeignete Serumlieferanten nur Kaninchen und Hühner, und wenn man zwischen beiden die Wahl hat, so wähle man dasjenige Tier, für welches das zu injizierende Eiweiß das artfremdere ist, da im allgemeinen die Einführung von fremdem Eiweiß von dem injizierten Tier mit einer um so stärkeren Präzipitinbildung beantwortet wird, je artfremder das injizierte Eiweiß für das betreffende Tier ist.

In praxi wird, wie gesagt, das Kaninchen in allererster Linie als Serumlieferant in Frage kommen und es ist zu bemerken, daß nicht jede Kaninchenart sich für diesen Zweck eignet. Nach *Uhlenhuths* Erfahrungen ist die langohrige Kaninchenart das geeignetste Tier für die Gewinnung präzipitierender Sera. Doch bestehen noch beträchtliche individuelle Unterschiede bezüglich der Eignung zur Präzipitinbildung, so daß es sich empfiehlt, immer gleichzeitig eine größere Anzahl von Tieren (5—6) vorzubehandeln, zumal da man auch mit dem Verlust des einen oder anderen Tieres durch anaphylaktische und andere Zwischenfälle noch während der Vorbehandlung rechnen muß. *Leers*[2] hat vorgeschlagen, durch fortgesetzte Impfungen von zur Präzipitinbildung geeigneten Muttertieren und deren Jungen sich besonders disponierte Kaninchenstämme heranzuzüchten. Größere Erfahrungen über die Brauchbarkeit dieses Vorschlages liegen nicht vor,

[1]) Zum Gebrauch fertige Antisera können in Deutschland vom Sächsischen Serumwerk in Dresden, vom kaiserl. Gesundheitsamt Berlin-Großlichterfelde, in Österreich vom Serotherapeutischen Institut in Wien bezogen werden.

[2]) *O. Leers,* Methoden und Technik der Gewinnung, Prüfung und Konservierung des zur forensischen Blut- und Eiweißdifferenzierung dienenden Antiserums. Verlag R. Schoetz. Berlin 1908.

so daß man in praxi am besten nach den von *Uhlenhuth* und *Weidanz* gegebenen Gesichtspunkten verfahren wird.

Die Vorbehandlung der Tiere (Kaninchen) geschieht mit demjenigen Eiweißmaterial, dessen Natur durch die Präzipitinreaktion erkannt werden soll. Wenn also z. B. ein auf Menschenblut verdächtiges Material zu untersuchen wäre, so hätte man die Tiere mit Menschenblut vorzubehandeln.

In der Praxis handelt es sich auch meistens um den Nachweis von Blut oder Fleisch, und so wird man zur Herstellung der entsprechenden Antisera auch am besten die Tiere mit Blut bzw. Fleischsaft vorbehandeln.

Während *Uhlenhuth* früher zur Gewinnung der Antisera für den forensischen Blutnachweis defibriniertes Blut als Injektionsmaterial verwandt hat, werden die Tiere jetzt, nachdem *Nolf* [1]) u. a. gezeigt haben, daß die Präzipitine in der Hauptsache durch das in dem eingespritzten Serum enthaltene Eiweiß erzeugt werden, nur noch mit dem Serum der betreffenden Blutart vorbehandelt. Die Vorteile liegen auf der Hand. Die Gewinnung von Serum ist einfacher als die von defibriniertem Blut, die Injektion des Serums ist gefahrloser als die des defibrinierten Blutes. Dazu kommt, daß man Serum leicht bakterienfrei filtrieren und aufbewahren kann.

So weit man also genügende Blutmengen zur Verfügung hat, wird man am besten die Tiere mit reinem Serum vorbehandeln; ist das nicht der Fall, so ist es vorteilhafter, das Gesamtblut zu injizieren, um so das ganze Eiweiß auszunutzen.

Für den forensischen Blutnachweis kommen hauptsächlich in Betracht: 1. Menschenblut, 2. das Blut von größeren Tieren (Pferd, Rind, Schwein, Ziege, Schaf, Hund, Reh etc.), 3. das Blut von Geflügeln (Hühner, Tauben, Gänse).

Das zur Gewinnung der Menschenantisera dienende Menschenblut bzw. -Serum kann durch Schröpfapparate, durch Aderlaß, durch Blutentnahme bei Operationen und Geburten sowie durch Blutentnahme aus Leichen gewonnen werden.

Am bequemsten ist wohl die Blutgewinnung durch den *Heurteloup*schen Schröpfapparat, durch Aderlaß oder wo sich Gelegenheit dazu bietet — bei Geburten. Man läßt nach Abbinden des kindlichen Endes der Nabelschnur aus dem plazentaren Ende das in der Plazenta befindliche Blut in sterile Glaszylinder laufen und gewinnt so ca. 20—30 cm^3 Blut bei jeder Geburt, wenn man durch Druck auf den Uterus die Plazenta noch auspreßt.

Ziemke hat zuerst die Verwendung von Leichenblut zum Zwecke der Gewinnung von Menschenantisera empfohlen; nach ihm haben besonders *W. A. Schmidt* [2]), *Hauser* [3]), *Oberndorffer* [4]) sich um die Ausarbeitung einer Methode der sterilen Entnahme von Leichenblut bemüht.

Hauser geht dabei in folgender Weise vor:

---

[1]) *Nolf*, Ann. de l'Institut Pasteur. T. **14**. p. 297 (1900).

[2]) *W. A. Schmidt*, Biochem. Zeitschr. Bd. 5. H. 5 u. 6 (1907).

[3]) *G. Hauser*, Über einige Erfahrungen bei Anwendung der serodiagnostischen Methode für gerichtliche Bluntuntersuchungen. Münchener med. Wochenschr. Nr. 7 (1904).

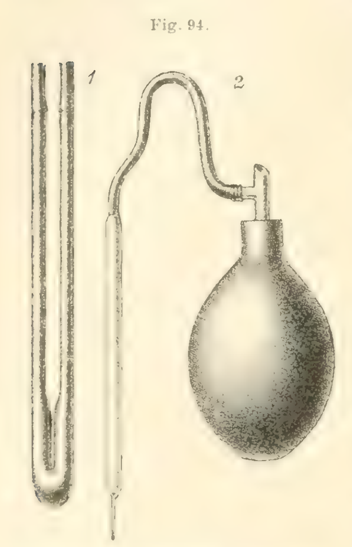
[4]) *Oberndorffer*, Münchener med. Wochenschr. Nr. 16 (1905).

Bei einer möglichst frischen Leiche wird die V. jugularis externa freipräpariert und sodann ein an einem Ende kurz abgebogenes, mit einer Einschnürung versehenes Glasrohr bis in den rechten Vorhof des Herzens eingeführt. An der Einschnürungsstelle des Glasrohres wird eine feste Ligatur um die Jugularis gelegt. Durch Heben der Leiche oder wenigstens der Extremitäten und durch Druck auf das Abdomen lassen sich leicht große Mengen flüssigen Blutes auspressen, die in weite, ca. 80 *cm*³ haltende sterile Glaszylinder abgefüllt werden. Man kann so von einer Leiche oft über 200 *cm*³ Serum gewinnen, das durch Zusatz von Chloroform und Aufbewahrung auf Eis monatelang gut sich konservieren läßt.

Im allgemeinen empfiehlt es sich, weder septische noch tuberkulöse Leichen zu dieser Art der Serumgewinnung zu verwenden, obgleich sich auch solche Sera mitunter steril gewinnen bzw. durch Lagerung mit Chloroformzusatz steril machen lassen.

Oberndorffer hat eine Methode angegeben, nach der es gelingt, durch direkten Einstich in den rechten Vorhof des Herzens durch die vorher sterilisierte Haut, also ohne Sektion der Leiche, reines und steriles Serum in beträchtlichen Mengen zu gewinnen. Dies ist nach *Oberndorffer* dadurch möglich, daß sich das ruhende Blut im Herrzen wie in einem Gefäß sedimentiert, das Serum entweder sich vom Blutkuchen auspreßt oder bei ungeronnenem Blut in den oberen Partien des Vorhofs ansammelt (Fig. 94).

Fig. 94.



Apparat zur Gewinnung von Leichenblut nach *Oberndorffer*.
1 verpackt, sterilisiert; *2* zum Gebrauch fertig.

Der Apparat besteht aus einer einfachen Glasröhre, deren Kaliber beliebig groß gewählt werden kann; in das zugeschmolzene eine Ende wird eine gewöhnliche Injektionsnadel eingeschmolzen; die Kanüle wird durch einen kleinen Gummischlauch mit einem Gummiballon verbunden, der neben dem Ansatz für den Gummischlauch noch eine zweite freie Öffnung besitzt. Das mit dem Gummischlauch verbundene Ende des Glasrohres wird mit einem Wattepfropfen versehen; das Ganze ist trocken sterilisiert und in sterilen Reagenzgläsern aufbewahrt; beim Ansetzen des Schlauches an das Glas läßt man den Wattepfropfen an seiner Stelle, da er so gleichzeitig als Bakterienfilter für die durchstreichende Luft dient.

Zur Blutentnahme wird die Kanüle in die zu aspirierende Flüssigkeit eingeführt und der Gummiballon komprimiert, wobei die Luft durch die Öffnung des Ballons entweichen kann. Verschließt man nun mit einem Finger die Öffnung, so saugt der sich ausdehnende Ballon die Flüssigkeit langsam an und man kann jederzeit durch Freimachen der oberen Öffnung die Aspiration unterbrechen und durch Verschließen der Öffnung wieder in Gang bringen.

Wenn kein Blut zu erlangen ist, kann man auch andere menschliches Eiweiß enthaltende Flüssigkeiten, wie Ascites-, Hydroceleninhalt,

Pleuraexsudate, eiweißhaltigen Urin zur Vorbehandlung der Tiere benutzen.

Bei größeren Tieren (Pferd, Rind, Schaf, Hund) läßt sich das Blut am besten aus der Vena jugularis durch Punktion mit einem sterilen Troikart gewinnen, indem man das Blut in große $^1/_2$–1 l fassende sterilisierte Glaszylinder unter aseptischen Kautelen auffängt. Um die Vena jugularis besser sichtbar zu machen, bringt man sie zur Anschwellung dadurch, daß man dem Tier unterhalb der Einstichstelle einen Stauungsstrick um den Hals legt. Es empfiehlt sich, besonders bei langhaarigen Tieren, die in Betracht kommende Halsstelle zu scheren. Wenn die gewünschte Menge Blut abgezapft ist, wird der Stauungsstrick gelockert und der Troikart entfernt.

Bei Schweinen wird man zweckmäßig das Blut direkt aus der Wunde des Herzstiches beim Schlachten auffangen. Kleinere Blutmengen lassen sich aus den Ohrvenen oder aus den Schwanzgefäßen nach Abschneiden des Schwanzendes gewinnen.

Bei Affen muß man operativ vorgehen und Blut aus einer freigelegten größeren Vene entnehmen.

Bei Geflügel wird am zweckmäßigsten eine Flügelarterie freigelegt und inzidiert.

Bei Kaninchen kann man bequem genügende Blutmengen aus den Ohrvenen entnehmen.

In allen Fällen empfiehlt es sich, das Blut unter möglichst aseptischen Kautelen zu gewinnen.

Die Operationsstelle ist von Haaren zu befreien, gründlich zu waschen und mit Alkohol oder anderen Desinfizientien zu desinfizieren. Die zur Verwendung kommenden Instrumente (Troikart, Auffanggefäße etc.) sind zu sterilisieren.

Ist es nicht möglich, ein steriles Blut zu erhalten, so kann man nachträglich, nach Abscheidung des Serums, dieses durch Filtration keimfrei machen.

Da man aus den oben erörterten Gründen besser Serum als defibriniertes Blut zur Vorbehandlung der Tiere verwendet, so wird man das frisch entnommene Blut in hohen sterilisierten Glaszylindern unter bakteriendichtem Verschluß erst einige Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen lassen. Nachdem sich der Blutkuchen gebildet hat, wird man mit einem sterilen Glasstab den Blutkuchen von der Gefäßwand trennen und das Blut sodann noch über Nacht im Eisschrank stehen lassen.

Das Serum hat sich dann klar ausgepreßt und abgesetzt und kann mittelst steriler Pipetten in sterile Gefäße abgefüllt werden. *Wassermann* empfiehlt zur Erlangung einer möglichst vollständigen Serumausbeute, den Blutkuchen mit einem sterilen Gewicht zu beschweren.

Das Injektionsmaterial kann lange Zeit aufbewahrt werden, wenn man es in sterilen Röhrchen (Reagenzgläsern), verschlossen mit einem formalingetränkten Wattestopfen und einer Gummikappe im Eisschrank

aufbewahrt. Zur Konservierung wird außerdem noch ein Zusatz von 0·5%iger Karbolsäurelösung oder von etwas Chloroform, das durch leichtes Erwärmen vor der Einspritzung wieder vertrieben werden kann, ratsam sein.

Sehr zu empfehlen ist die von *Uhlenhuth* vorgeschlagene Methode der Eintrocknung: man läßt das möglichst steril entnommene Blut oder Serum in dünner Schicht in Petrischalen in der Sonne oder im Brutschrank bei 37° C rasch antrocknen, kratzt das getrocknete Material ab und bewahrt es in Reagenzgläsern auf. *Löffler* empfiehlt bei stark bakteriell verunreinigtem Blut eine halbstündige Erhitzung des angetrockneten Blutes auf 150° C.

Für die Herstellung von Sera zum Nachweis von Pferdefleischeiweiß kann die Vorbehandlung der Kaninchen mit Pferdefleischsaft vorgenommen werden, den man entweder durch Auspressen des zerkleinerten Fleisches durch feuchte Koliertücher oder durch Gefrieren und schnelles Auftauen des Fleisches gewinnt. Die Konservierung dieser Fleischsäfte hätte in analoger Weise zu erfolgen wie die der Sera. Bei der intravenösen Vorbehandlung der Tiere mit Fleischsaft ist zu beachten, daß Fleischsaft die allen Organextrakten gemeinsamen, von *Dold*, *Roger*, *Bianchi* u. a. studierten Gifte enthält, die oft den plötzlichen Tod der Tiere zur Folge haben. Man muß daher Vorsorge treffen, daß man unterhalb der letalen Dosis bleibt; gefahrloser ist es, wenn man mit durch Berkefeldfilter filtriertem Extrakt die Tiere vorbehandelt.

Aus diesem Grunde und weil die Vorteile einer Vorbehandlung mit Fleischsaft zweifelhafte sind, empfiehlt es sich, auch für die Gewinnung der für Fleischuntersuchungen zu verwendenden Antisera Serum zur Vorbehandlung zu benützen.

Von *C. Strzyzowski*[1]) ist die gleichzeitige Vorbehandlung der Tiere mit mehreren Serumproteinen zur Erzeugung polyvalenter Sera vorgeschlagen worden. Nach Ansicht dieses Autors können solche polyvalenten Sera in gewissen Fällen zur leichteren Orientierung bei Blutdifferenzierungsarbeiten herangezogen werden. Der endgültige Bescheid soll aber doch nur von der Verwendung der monovalenten Antisera abhängig gemacht werden. In praxi sind solche polyvalenten Sera bisher nicht in größerem Maßstab angewendet worden, so daß Erfahrungen über ihren Wert nicht vorliegen.

Die Vorbehandlung der Tiere kann intravenös, intraperitoneal oder subkutan erfolgen; die Wahl des Injektionsmodus richtet sich nach dem zu injizierenden Material. Die subkutane und intraperitoneale Vorbehandlung ist bei nicht ganz sterilem Material i. A. gefährlicher als die intravenöse und ist auch aus anderen Gründen vorzuziehen. *Uhlenhuth* und auch *Nuttall* empfehlen ca. 1—3 cm^3 Serum 4—5—6mal jeden 5.—6. Tag zu injizieren.

[1]) *Hoppe-Seylers* Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. **66**. H. 1 u. 2. S. 1 ff. (1910).

Fornet und *Müller*[1]) haben eine Schnellimmunisierungsmethode angegeben; sie injizieren den Kaninchen am 1., 2. und 3. Tag 5, 10 und 15 cm^3 des Materials intraperitoneal und lassen die Tiere am 12. Tag verbluten. Auf diese Weise soll man schon in bedeutend kürzerer Zeit wirksame Sera erhalten. Die Angaben sind von *Bonhoff* und *Tsuzuki*[2]), *Gay* und *Fitzgerald*[3]) bestätigt, von anderer Seite (*Uhlenhuth* u. A.) bestritten worden.

Allgemeine Erfahrungstatsache ist jedenfalls, daß auch bei Befolgung der *Uhlenhuth*schen Methode nicht jedes behandelte Tier gleichmäßig gute Sera liefert; die Individualität der Tiere scheint von ausschlaggebender Bedeutung zu sein.

Zu beachten ist, daß während der Vorbehandlung gelegentlich ein Tier Überempfindlichkeitserscheinungen bzw. (bei Injektion von Organsäften) Erscheinungen der Organextraktvergiftung zeigt und dann eingeht.

Auf eine detaillierte Beschreibung der Technik der intravenösen und intraperitonealen Injektion kann hier nicht näher eingegangen werden. Es sei hier auf die von *Uhlenhuth* und *Weidanz* in ihrem oben erwähnten Buche gegebene genaue Beschreibung hingewiesen.

Es mag genügen, zu sagen, daß die intravenöse Injektion beim Kaninchen in die Randvene des Ohres nach vorheriger Desinfektion der Injektionsstelle erfolgt; die Vene kann durch Kompression an der Ohrwurzel oder durch Betupfen mit heißem Wasser oder Xylol zur Schwellung gebracht werden.

Die intraperitoneale Injektion erfolgt am besten nach der *Uhlenhuth*schen Methode, indem das Tier von einem Assistenten vertikal mit dem Kopf nach abwärts gehalten und dann das Material an einer rasierten und desinfizierten Stelle des Bauches mit einer Spritze, deren Kanüle abgestumpft ist, eingespritzt wird. Bei subkutaner Vorbehandlung wird das Material nach Desinfektion der Injektionsstelle in eine Bauchhautfalte injiziert; die dadurch entstehende Beule sollte durch Massieren verstrichen werden.

Die Tiere sind genau zu kennzeichnen und in geräumigen Käfigen in guter Pflege zu halten. Eine regelmäßige Kontrolle des Körpergewichtes ist nicht notwendig, da man aus dem Verhalten des Gewichtes keine sicheren Schlüsse auf das Verhalten der Antikörperbildung ziehen kann.

Da die Präzipitine trotz gleicher Vorbehandlung bei den einzelnen Tieren zu verschiedenen Zeitpunkten, in verschiedener Menge oder gar nicht auftreten, ist es notwendig, das Blut der Tiere in gewissen Zeitintervallen auf seinen Gehalt an Präzipitinen zu untersuchen.

Die meisten Autoren haben nach der 1. Injektion ein Auftreten von Präzipitinen nicht beobachtet. Nach *Uhlenhuth* und *Beumer*[4]) empfiehlt es

[1]) *Fornet* und *Müller*, Zeitschr. f. biol. Technik. Bd. 1. H. 3.

[2]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. etc. Bd. 4. S. 180 u. 194 (1910).

[3]) University of California Publications. Vol. 2. Nr. 8 (1912).

[4]) *Uhlenhuth* und *Beumer*, Zeitschr. f. Medizinalbeamte. Nr. 5 u. 6 (1903).

sich, die erste Probeblutentnahme nach der 3. Injektion, und zwar etwa am 7. Tag nach der letzten Einspritzung, wo die Präzipitinbildung in der Regel den Höhepunkt erreicht hat, vorzunehmen.

Zum Zwecke der Probeblutentnahme wird durch Klopfen und Schlagen des Kaninchenohrs oder durch Betupfen desselben mit heißem Wasser oder Xylol eine Hyperämie erzeugt, worauf ein Stück der Randvene durch Wegschneiden der darüber befindlichen Haut mit einer *Cooper*schen Schere freigelegt wird. Die Vene wird an der freigelegten Stelle unter möglichst aseptischen Kautelen eingeschnitten, das in Tropfen abfließende Blut (etwa 3 *cm*³) in einem sterilen Reagenzröhrchen oder einer Petrischale aufgefangen. Nach Entnahme der nötigen Blutmenge erfolgt die Blutstillung durch Abkneifen der beiden Gefäßenden mit dem Fingernagel, durch Kompression mit Watte, Anlegen einer Klemme oder, wenn nötig, durch Umstechung. Das aufgefangene Blut überläßt man am besten mehrere Stunden sich selbst, bis sich ein möglichst farbloses Serum, das eventuell zur Entfernung von Blutkörperchen zu zentrifugieren ist, abgeschieden hat.

Das Serum ist als brauchbar und zur definitiven Blutentnahme geeignet zu betrachten, wenn es nur in der homologen, aus eingetrocknetem Blut mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellten Blutlösung (etwa 1:1000) sofort oder nach wenigen Minuten einen deutlichen Niederschlag erzeugt. Die Ausführung der Reaktion ist später beschrieben.

Entspricht das Serum diesen Anforderungen, so ist es nach den Erfahrungen *Uhlenhuths* und der meisten anderen Autoren *(Nuttall)* besser, das Tier nicht länger leben zu lassen oder noch weiter zu behandeln, da nicht selten ein plötzlicher Schwund an Präzipitinen eintritt, sondern bald zu entbluten. Es empfiehlt sich jedoch, vor der definitiven Entblutung sich davon zu überzeugen, daß kein freies Antigen mehr kreist, da sonst in dem Serum Niederschläge, die auf Autopräzipitation beruhen, auftreten. Die Tiere sollen 24 Stunden vor der Entblutung hungern; dadurch erzielt man klarere Sera.

Von den zur Blutentnahme angegebenen verschiedenen Verfahren dürfte das von *Uhlenhuth* geübte das zweckmäßigste sein, weil es die größte Serumausbeute gibt.

„Das Tier wird tief chloroformiert und auf ein Brett gespannt. Nachdem die Brust- und Bauchfläche mit Alkohol befeuchtet ist — um Verunreinigungen durch Haare zu vermeiden —, werden durch einen medianen Längsschnitt die Weichteile getrennt, der Brustkorb freigelegt und die vordere Brustwand entfernt. Bei den letzten schwachen Schlägen des Herzens wird das Herz angeschnitten. Das Tier entblutet in die Brusthöhle. Mit einer sterilen etwa 20 *cm*³ fassenden Pipette, die, um ein Verstopfen mit Blutgerinnseln zu vermeiden, mit einer recht weiten unteren Öffnung versehen sein muß, wird das Blut aufgesogen und in einen Blutzylinder gefüllt. Auf diese Weise gewinnt man 70—80 *cm*³ Blut; kräftige Tiere liefern bis zu 110 *cm*³.

Das Serum gewinnt *Uhlenhuth* nach folgender Methode:

Das in Blutzylinder gefüllte Blut bleibt bei gewöhnlicher Zimmertemperatur etwa 24 Stunden stehen. Es hat sich dann meist ein farbloses, klares Serum abgesetzt, welches mit einer sterilen Pipette in sterile Reagenzgläser übertragen wird. Um das in dem

Zylinder zurückbleibende Blut nach Möglichkeit auszunutzen, wird der Blutkuchen zweckmäßig durch Belasten mit einem sterilen Gewicht ausgepreßt. Haftet das Gerinnsel an einigen Stellen der Wandung des Glases an, so wird es mit einem Spatel, dessen Krümmung der Wölbung des Zylinders entspricht, vorsichtig abgelöst. Das erhaltene Serum wird durch Absitzenlassen oder Zentrifugieren von korpuskulären Elementen befreit.

Nuttall schlägt vor, das Blut in großen Schalen aufzufangen und mehrere Stunden ruhig stehen zu lassen; das Serum, welches sich auspreßt, sammelt sich an der Oberfläche, und kann dann ohne weiteres abpipettiert und in Glasröhrchen, die nach beiden Seiten ausgezogen sind, eingefüllt werden. Die Röhrchen werden vertikal aufbewahrt; etwaige sich später bildende Niederschläge setzen sich in dem unteren ausgezogenen Ende ab und können durch Abbrechen der Spitze entfernt werden.

Uhlenhuth verlangt von einem brauchbaren Antiserum:[1]

1. daß es steril und absolut klar ist. Opaleszierende Sera sind unbrauchbar,
2. daß es hochwertig und
3. daß es artspezifisch ist.

Klärung.

Um die erste Forderung zu erfüllen, empfiehlt *Uhlenhuth* die Filtration der frisch gewonnenen Sera durch ein steriles *Berkefeld*-Filter. Er verwendet hierzu einen „Filtrierabfüllapparat", der gleichzeitig ein Abfüllen des filtrierten Serums in geeignete Röhrchen gestattet. Der Apparat setzt sich zusammen aus einer Kieselgurkerze, einer Saugflasche und einer Saugpumpe. Für jedes neue Antiserum ist eine neue Kerze zu verwenden. Die Kerzen können durch umgekehrte Filtration von reinem Wasser wieder gereinigt werden.

Es folge hier die Beschreibung und Gebrauchsanweisung, die *Uhlenhuth* und *Weidanz* ihrem Apparat gegeben haben (Fig. 95 *a* und *b*).

Der Filtrierabfüllapparat, der im wesentlichen eine Kombination des *Maassen*schen Bakterienfiltrierapparates und des Lymphabfülltrichters (Modell der königl. Preuß. Anstalten zur Gewinnung animalischer Lymphe) darstellt, besteht aus der *Berkefeld*schen Kerze *(a)*, die mittelst eines Gummistopfens mit der Saugflasche *(b)* in Verbindung steht. Diese zeigt dicht unter dem Halse ein Ansatzrohr, das mit einer Kugel behufs Aufnahme von Watte versehen ist; in derselben befindet sich außerdem noch eine zweite Glaskugel, die kleine nach der Saugflasche zu gerichtete Öffnungen besitzt und dadurch ein direktes Hineinströmen von Luft in die Saugflasche verhindern soll. Das Ansatzrohr steht mit der Wasserstrahlpumpe *(d)* in Verbindung. Zur Vermeidung des Hineindringens von Wasser in die Saugflasche ist das Rückschlagventil *(e)* eingeschaltet, und zur Regulierung des Luftdruckes in der Saugflasche dient der Dreiwegehahn *(c)*. Der Abfüllhahn *(f)* ist mit einer umschmolzenen Hülle versehen und zeigt außerdem eine glockenförmige Erweiterung, die es gestattet, einen Bausch Watte einzuführen, der die Drehung des Hahnes nicht hindert, wohl aber

ein Eindringen etwaiger Luftkeime verhindert. Mit dem Abfüllhahn steht das genau graduierte Röhrchen *(h)*, das oben behufs Aufnahme von Watte zu einer Kugel ausgezogen ist, in Verbindung. Der Abfüllhahn *(f)* ist so eingerichtet, daß auch mit Umgehung des Röhrchens *(h)* das Filtrat direkt abgefüllt werden kann. Das Ausflußrohr *(g)* ist von einer angeschmolzenen Glasglocke umgeben, sie hat den Zweck, einmal durch Verschließen der Glasglocke mittelst Watte das Abflußrohr vor Infektion zu schützen und außerdem beim Abfüllen des sterilen Filtrates das Hineinfallen von Luftkeimen in die Abfüllröhrchen zu verhindern.

Fig. 95 *a*.



Filtrierabfüllapparat nach *Uhlenhuth-Weidanz*.

Die Filtration wird nun in der Weise ausgeführt, daß, nachdem das zu filtrierende Serum in den Zylinder der Kerze gegossen ist, die Saugpumpe langsam angestellt wird. Hierbei ist darauf zu achten, daß der Dreiwegehahn *(e)* zwischen Saugflasche und Saugpumpe *(d)* richtig eingestellt ist; es ist das der Fall, wenn der Knebel des Hahnes in der Richtung der beiden Ansatzröhren verläuft. Um die ersten Kubikzentimeter des Filtrates, die vorzugsweise aus Wasser bestehen, welches beim Auskochen und Sterilisieren der Kerze in derselben zurückgeblieben ist, zu beseitigen, muß die Saugpumpe ausgeschaltet und die Differenz des Luftdruckes zwischen Saugflasche und atmosphärischer Luft wieder ausgeglichen werden: beides wird erreicht durch Drehung des Hahnes um 90° nach

rechts. Nachdem durch Öffnen des Abfüllhahnes *(f)* der Saugflasche das unbrauchbare Filtrat entfernt ist, wird die Filtration wieder aufgenommen.

Ist die zu filtrierende Flüssigkeit in dem Umhüllungszylinder bis zu dem Metallansatz der Kerze gesunken, so wird, um restlos filtrieren zu können, die Flüssigkeit mit einer zu einer Kapillare ausgezogenen Glasröhre aufgesaugt und auf die Kerze geträufelt. Nach *W. A. Schmidt* kann man auch in der Weise verfahren, daß man den Glaszylinder bis zum oberen Rande des Metallansatzes der Kerze mit Glaskügelchen anfüllt und auf diese Weise die Flüssigkeit zum Steigen bringt. Ferner kann man auch über die Kerze ein Reagenzglas stülpen, das bis auf den Boden des Glaszylinders reicht. Durch die noch in dem Zylinder vorhandene Menge Flüssigkeit wird die Öffnung des Reagenzglases abgeschlossen; es bildet sich bei weiterem Saugen zwischen Kerze und Reagenzglas ein luftverdünnter Raum, die Flüssigkeit steigt infolgedessen, benetzt den porösen Teil der Kerze und wird fast vollständig aufgesaugt. Nachdem das Serum filtriert ist, wird die Filtration in der angegebenen Weise wieder abgestellt. Die Filtration unter zu hohem negativen Druck, die sich durch starke Schaumbildung kenntlich macht, ist mit Hilfe des Dreiwegehahnes *(e)* leicht zu vermeiden, indem man durch Drehen des Hahnes nach rechts etwas Luft in die Saugflasche einströmen läßt. Das quantitative Abfüllen des klaren Filtrats wird folgendermaßen ausgeführt: „Der Abfüllhahn *(f)* wird so gedreht, daß eine Kommunikation

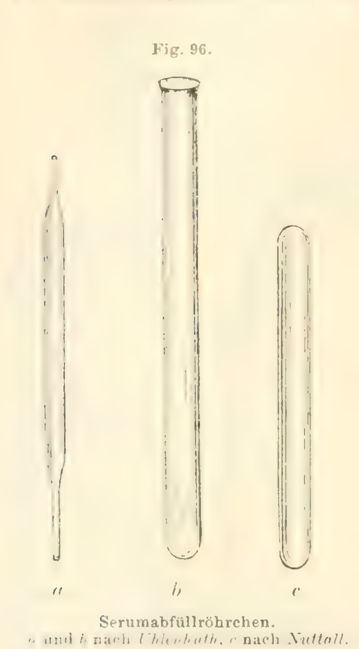
Fig. 95 *b*.



Modifizierter Filtrierabfüllapparat nach *Uhlenhuth-Weidanz*.

zwischen der Saugflasche und dem Röhrchen *(h)* hergestellt wird; ist das erreicht, so steigt das Filtrat in *h* in die Höhe, vorausgesetzt, daß der obere Watteverschluß des Röhrchens nicht zu dicht ist. Sollte das der Fall sein, so muß er auf sterile Weise etwas gelockert werden. Hat man so das gewünschte Quantum abgefüllt, so wird durch Drehung des Abfüllhahnes die Verbindung mit der Saugflasche unterbrochen, dagegen mit dem Abflußrohr *(g)* hergestellt und das abfließende Serum zu je 1 cm^3 in die einzelnen sterilen Röhrchen abgefüllt. Ist das Filtrat bis zu dem unteren röhrenförmig ausgezogenen graduierten Ende der Saugflasche gesunken, so wird der Abfüllhahn so gedreht, daß mit Umgehung des Röhrchens *(h)* direkt abgefüllt wird und somit kein Tropfen von dem oft kostbaren Filtrat verloren geht. Wir haben bei dieser Filtration sehr gute Resultate erzielt. Bei unvollkommener Dichtung des Abfüllhahnes steigen jedoch bei der Filtration Luftblasen in der bereits filtrierten Flüssigkeit auf.

Fig. 96.



Serumabfüllröhrchen.
a und *b* nach *Uhlenhuth*, *c* nach *Nuttall*.

Um nun den Abfüllhahn bei der Filtrierabfülleinrichtung ganz auszuschalten, haben wir folgende Modifikation (Fig. 95*b*) angewandt. Die Saugflasche *(b)* steht hier mittelst eines Druckschlauches mit dem genau graduierten Röhrchen *(h)* in Verbindung. Dieses hat an seinem oberen Ende ein seitliches Ansatzrohr *(i)*, dessen obere Öffnung zwecks Aufnahme von Watte zu einer Kugel ausgezogen ist. Röhrchen *h* steht an seinem unteren Ende durch einen Druckschlauch mit dem mit angeschmolzener Glasglocke umgebenen Ausflußrohr *(g)* in Verbindung. Durch zwei Schraubenquetschhähne kann die Verbindung zwischen Saugflasche und Röhrchen *h* einerseits und zwischen Abflußrohr *g* und Röhrchen *h* andrerseits unterbrochen werden.

Vor der Filtration ist der obere Quetschhahn so fest anzuziehen, daß bei der Filtration keine Luftblasen in der bereits filtrierten Flüssigkeit aufsteigen. Ist die Filtration in der oben beschriebenen Weise vollendet und die Luftdruckdifferenz zwischen Saugflasche und atmosphärischer Luft ausgeglichen, so wird nach Schließen des unteren Quetschhahnes der obere geöffnet und das gewünschte Quantum in Röhrchen *h* abgefüllt. Hierbei ist darauf zu achten, daß der Watteverschluß des Ansatzröhrchens *(i)* nicht zu dicht ist, damit beim Herabfließen des Filtrates die im Röhrchen *h* befindliche Luft entweichen kann. Durch vorsichtiges Öffnen des unteren Quetschhahnes kann nunmehr genau quantitativ das Filtrat abgefüllt werden."

Uhlenhuth füllt das Antiserum in braune, aber vollkommen klare Röhrchen von ca. 12·5 *cm* Länge und 0·7 *cm* Durchmesser, die vor dem

Gebrauch sorgfältig mit destilliertem Wasser gereinigt, an der Luft getrocknet und mit Wattebausch versehen bei 150° C im Trockensterilisierungsschrank sterilisiert werden müssen. Andere Autoren (*Nuttall*, *Fliche* u. A.) empfehlen nach beiden Seiten ausgezogene Kapillaren zur Abfüllung und Aufbewahrung der Antisera (Fig. 96).

Opaleszierende Sera sind, da sie leicht zu Irrtümern in der Beurteilung der Reaktion führen und eine Beseitigung der Opaleszenz durch Filtration und andere Mittel nicht gelingt, als unbrauchbar zu betrachten. Da die Opaleszenz der Sera wahrscheinlich mit der Verdauung zusammenhängt, soll man zur Vermeidung dieser störenden Eigenschaft des Serums die Tiere vor der Entblutung etwa 24 Stunden lang hungern lassen.

Titerbestimmung.

Das zweite Postulat, die Hochwertigkeit des Serums, ist nach der Ansicht der meisten Autoren, besonders *Uhlenhuths*, für die praktische Brauchbarkeit eines Serums sehr wichtig.

Die Wertigkeit eines Serums kann man auf dreierlei Weise bestimmen:

1. Durch Ermittlung der Menge des Präzipitats, das sich nach Vermischung einer bestimmten Menge einer bestimmten Eiweiß-(Serum-)verdünnung mit einer bestimmten Menge des betreffenden Antiserums bildet.

(Titerbestimmung nach *Nuttall* und *Inchley*.[1])

2. Durch Feststellung der stärksten Eiweiß-(Serum-)verdünnung, in der das betreffende Antiserum noch Niederschlag oder Trübung erzeugt.

(Titerbestimmung nach *Uhlenhuth* und *Beumer*.)

3. Durch Feststellung der geringsten Antiserummenge, die in einer bestimmten konzentrierten homologen Blutlösung innerhalb einer bestimmten Zeit einen flockigen Niederschlag hervorruft.

(Titerbestimmung nach *Wassermann* und *Schütze*.)

Am einfachsten gestaltet sich die Titerbestimmung nach *Uhlenhuth* und *Beumer*:

Es werden zunächst von den Serumarten, zu deren Nachweis das Antiserum dienen soll, mit physiologischer (0·85%iger) Kochsalzlösung Verdünnungen hergestellt, und zwar 1 : 1000, 1 : 10.000 und 1 : 20.000. — Für die Titerbestimmung werden nun vier gleichmäßig dicke und absolut saubere kleine Reagenzröhrchen ausgesucht und in das von den Autoren angegebene Reagenzglasgestell (siehe unten) gehängt.

Mit einer sterilen Pipette werden in Röhrchen I, II und III je 1 cm^3 der klaren Verdünnungen 1 : 1000, 1 : 10.000 und 1 : 20.000 gebracht. In Röhrchen IV kommt 1 cm^3 steriler 0·85%iger Kochsalzlösung.

[1]) *Nuttall* und *Inchley*, Journal of Hygiene. Vol. 4. Nr. 2 (1904).

Wenn man zuerst Röhrchen IV und dann Röhrchen III, II und I beschickt, so kommt man mit einer Pipette aus.

Jedes Röhrchen erhält sodann 0·1 cm^3 des zu prüfenden klaren Antiserums mit einer sterilen $^1/_{100}$ cm^3-Pipette zugesetzt. Ohne zu schütteln, werden die Röhrchen zweckmäßig bei durchfallendem Lichte betrachtet, indem zwischen Lichtquelle und Reagenzröhrchen ein schwarzes, schräg nach oben geneigtes Brettchen gehalten wird.

Nach *Uhlenhuth* muß man von einem als brauchbar zu bezeichnenden Antiserum verlangen, daß es im Röhrchen I fast momentan, spätestens nach 1—2 Minuten, in Röhrchen II und III in etwa 3 bzw. 5 Minuten eine deutliche Trübung hervorruft. Röhrchen IV muß vollkommen klar bleiben.

Für die Titerbestimmung sind nach den Erfahrungen der meisten Autoren Serumverdünnungen geeigneter als Blutverdünnungen, da die Gegenwart von Hämoglobin den Ablauf der Reaktion etwas hemmt und die Erkennung von Trübungen erschwert.

Die Titerbestimmung nach *Nuttall* und *Inchley* wird in folgender Weise ausgeführt[1]):

Von einer Serumverdünnung von 1 : 100 werden 0·5 cm^3 mit 0·1 cm^3 Antiserum in ein kleines Reagenzröhrchen gebracht. Die Durchmischung der beiden Flüssigkeiten geschieht durch einfaches Umdrehen des mit dem Finger verschlossenen Röhrchens. Nach 24stündigem Stehen desselben wird von dem zu Boden niedergeschlagenen Präzipitat die darüber befindliche Flüssigkeit vorsichtig abpipettiert und der zurückgebliebene Rest genau gemessen. Hierzu bedient man sich eines Thermometerröhrchens, dessen Lumen so beschaffen ist, daß 0·05 cm^3 einen 20 *mm* hohen Raum einnehmen. Um Glasröhrchen von möglichst gleichem Kaliber zu bekommen, steckt man einen zu einer Spitze ausgezogenen Glasstab so weit als möglich in ein derartiges Röhrchen, das obigen Anforderungen entspricht, hinein. Durch Umdrehen des Stabes in demselben bezeichnet man sich nunmehr genau den Berührungsring. Mit einem so markierten Glasstabe kann man sich dann leicht die passenden Röhrchen aussuchen. Aus diesen Röhrchen werden Pipetten (Fig. 97) hergestellt, deren Spitze *(F)* 7 *cm* und deren Hauptstück *(D)* 11 *cm* lang ist. Der Inhalt des Röhrchens zwischen *A* und *B* beträgt 0·05 cm^3.

Mit einer solchen Pipette wird die in dem kleinen Reagenzgläschen zurückgebliebene, präzipitathaltige Flüssigkeit vollständig aufgezogen, und zwar so weit, bis der untere Meniskus etwas oberhalb von *B* steht. Um ein Sinken der Flüssigkeit unter *B* zu verhindern, wird die Spitze des Röhrchens in ein mit Quecksilber gefülltes kleines Reagenzglas *(E)* gestellt. Nunmehr bleibt das Röhrchen 48 Stunden bei einer Temperatur, die ein Bakterienwachstum verhindert, stehen. Das in dem Thermometerröhrchen

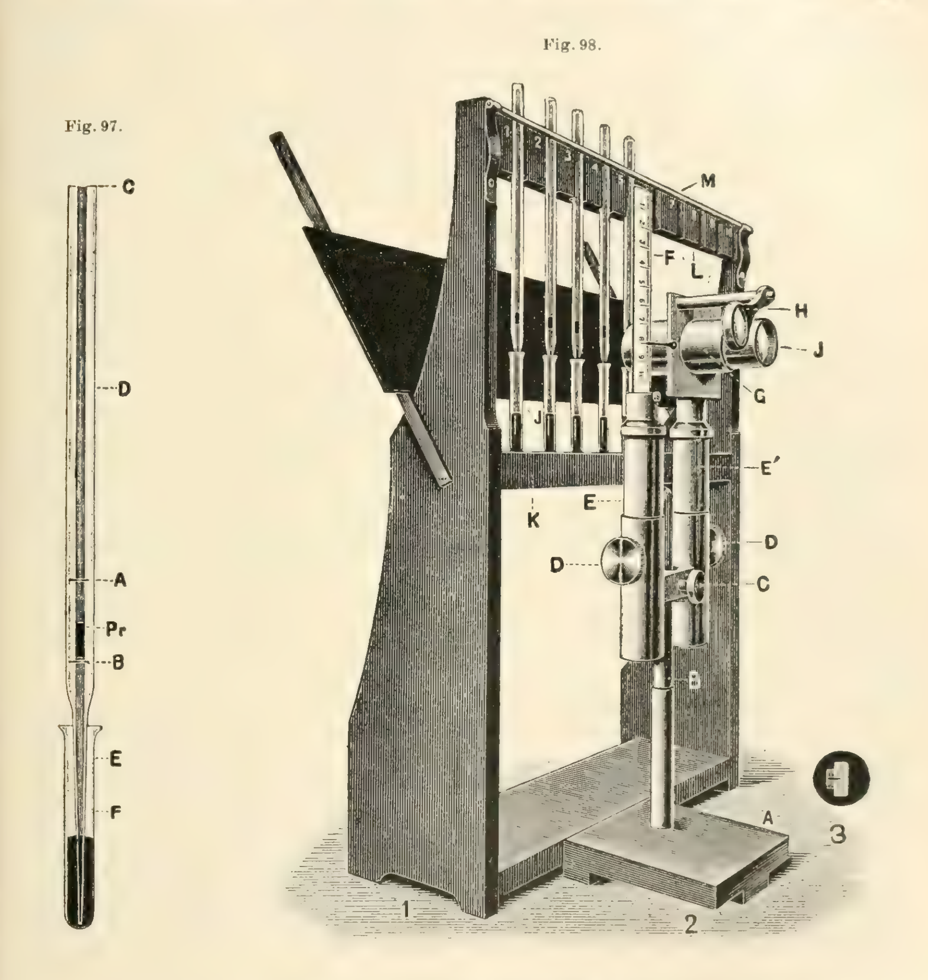
[1]) Ich entnehme diese Angaben der Beschreibung des Apparates in: *Uhlenhuth* und *Weidanz*, Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens etc. G. Fischer, Jena 1909.

nach unten gesunkene Präzipitat wird dann mit folgendem Apparat genau bestimmt.

Der Meßapparat (Fig. 98) besteht aus der eisernen Flußplatte *A*, auf der der Eisenstab *B* vertikal befestigt ist; er ist eingekehlt, um dadurch zu verhindern, daß sich der obere Teil des Apparates dreht. Dieser läßt

Fig. 98.

Fig. 97.



Apparat zur genauen quantitativen Bestimmung von Präzipitaten nach *G. Nuttall* und *O. Inchley*.

sich an dem Stabe auf- und abschieben und kann durch die Schraube *C* in jeder gewünschten Höhe festgestellt werden. Das eine Ende der Schraube ist so abgerundet, daß es genau in die Kehlung des Stabes *B* hineinpaßt. Der von *C* durchbohrte horizontale Metallstab trägt zwei senkrechte Röhren mit den Schrauben *D* und *D 1*, welche die inneren Röhrchen *E* und *E 1* unabhängig voneinander mit je 5 cm^2 Spielraum herauf und herunter

gleiten lassen können. Röhre *E* trägt eine senkrecht stehende, stählerne 10 *cm*-Skala, die in 0·5 *mm* graduiert ist. Auf *E 1* ist eine rechtwinklige Platte senkrecht befestigt, durch deren Mitte Röhre *G* in senkrechter Richtung geht. Außerdem befindet sich an der Platte noch ein Zeiger, der bis vor die Teilstriche der Skala reicht. In *G* stecken zwei Röhren, die sich vor- und rückwärts bewegen lassen. Eine davon, nächst dem Reagenzglasständer gelegen, trägt eine Blende (siehe Fig. 98, *3*) mit rechteckiger Öffnung, deren horizontaler Durchmesser genau dem der Glasröhren, welche den zu messenden Niederschlag enthalten, entspricht. Eine feine schwarze Nadel ragt horizontal in das Zentrum dieser Blendenöffnung hinein. Die zweite Röhre *J* ist an dem einen Ende offen, an dem anderen mit einer Blende versehen, die einen feinen durch die Mitte gehenden Schlitz zeigt. Die Röhren sind innen geschwärzt.

Der Röhrchenständer soll die das Präzipitat enthaltenden Röhrchen in senkrechter Stellung möglichst nahe der Nadel in der Scheidewand der in *G* beweglichen Röhre halten. Die kleinen Quecksilber enthaltenden Reagenzgläschen *J* ruhen in konischen Vertiefungen, die den numerierten Ringen auf dem Holzbrett *K* entsprechen. Die Thermometerröhrchen stehen auf dem Boden der Reagenzgläschen auf und halten diese, wenn sie selbst oben angeklemmt sind, in ihrer Stellung. Die Vertiefungen *L* fixieren die Glasröhrchen, wenn sie mittelst des Stabes *M* in diese Kerbschnitte eingedrückt werden, in richtiger Lage. Der Metallstab verläuft parallel mit der oberen Kante von *L* und wird an jedem Ende durch eine Feder festgehalten. Die Röhrchen müssen immer von unten nach oben eingesetzt werden. Eine schwarze Papptafel liegt auf zwei seitlichen Metallträgern und dient als Hintergrund, um das Ablesen des Präzipitats in den Röhrchen zu erleichtern. Die vordere Fußkante des Röhrengestelles dient als Gleitfläche für den Meßapparat.

Die Messung des Präzipitats mit dem beschriebenen Apparat wird folgendermaßen ausgeführt: Man setzt den Fuß des Röhrenständers *(1)* parallel zu dem Boden *A* des Apparates. Die Höhe des Apparates wird bestimmt bzw. reguliert durch Lochung von *C* und Höher- oder Niederschieben des oberen Teiles an dem Stabe *B*. Hat man auf diese Weise die gewünschte Höhe erreicht, so muß die Schraube fest angezogen werden. Darauf wird die Röhre, welche die nadeltragende Blende hat, möglichst nahe an das das Präzipitat enthaltende Thermometerröhrchen von bekanntem Inhalt gebracht, ohne dieses jedoch zu berühren. Durch Regulieren und Durchschauen durch Röhre *J* muß die Nadelspitze in gleiche Lage mit dem unteren konvexen Spiegel der Flüssigkeit (Präzipitats) gebracht werden. Durch Drehen an *D* wird die Skala *F* so eingestellt, daß der Zeiger über der Zentimetergraduierung steht. Nunmehr wird durch Drehen an *D 1* in ähnlicher Weise der obere Rand des Präzipitats festgelegt. Der Zeiger gibt die auf *F* zurückgelegte Distanz an, zur Erleichterung des Ablesens dient die kleine Lupe *H*. Aus der so gefundenen Höhe des Präzipitats und dem Lumen des Röhrchens wird dann die Menge desselben berechnet.

Wassermann und *Schütze*[1]) empfehlen für die Praxis die Anwendung schwach wirkender Antisera und legen der Titerbestimmung ihrer Antisera ein Normalpräzipitierungsserum zugrunde, d. h. ein Antiserum, von dem 1 cm^3 in 5 cm^3 einer bestimmten Blutlösung (0·1 cm^3 defibriniertes Blut + 5 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung) innerhalb einer Stunde bei 37° C einen flockigen Niederschlag erzeugt. Rufen schon geringere Mengen des Antiserums in den 5 cm^3 der Blutlösung flockigen Niederschlag hervor, so ist das betreffende Antiserum ein mehrfaches Normalpräzipitierungsserum: Wenn z. B. schon 0·5 cm^3 des zu prüfenden Antiserums den flockigen Niederschlag in den 5 cm^3 Blutlösung erzeugt, so ist dieses Antiserum ein zweifaches Normalpräzipitierungsserum, es enthält 2 Präzipitierungseinheiten.

Antisera, die mehr als 2 Präzipitierungseinheiten haben, sind nach *Wassermann* und *Schütze* für die Praxis nicht zu empfehlen.

Die Blutlösungen werden zweckmäßig so hergestellt, daß man auf Leinwandstückchen je 0·1 cm^3 Blut auftropfen und antrocknen läßt. Nach etwa 2 Tagen löst man die Blutflecken mit je 5 cm^3 0·85%iger Kochsalzlösung, filtriert die Lösungen, bis sie klar sind und setzt dann zu den klaren Filtraten das zu prüfende Antiserum in fallenden Mengen (1·0, 0·75, 0·5 cm^3 usw.) hinzu, stellt die Mischungen in einen Brutschrank von 37° und stellt nach 1 Stunde fest, in welchem Röhrchen noch ein flockiger Niederschlag aufgetreten ist. Wäre das z. B. bei dem Röhrchen, dem 0·1 cm^3 des Antiserums zugesetzt worden ist, der Fall, so hätte dieses Antiserum 10 Präzipitierungseinheiten.

Spezifizitätsprüfung.

Es genügt nun nicht, daß ein Antiserum hochwertig ist: es muß auch artspezifisch sein. Hochwertigkeit und Spezifizität gehen keineswegs immer parallel.

Um auf Spezifizität zu prüfen, verfährt man nach *Uhlenhuth* so, daß man sich 1. eine Verdünnung des homologen Serums auf 1:1000; 2. Verdünnungen verschiedener praktisch in Betracht kommender heterologer Eiweißlösungen von je 1:200 und 1:1000 herstellt.

Zu je 1 cm^3 dieser verschiedenen Lösungen wird je 0·1 cm^3 des zu prüfenden Antiserums wie bei der Titerbestimmung nach *Uhlenhuth* zugesetzt.

Von einem guten Antiserum wird verlangt, daß in der homologen Eiweißlösung sofort nach Zusatz des Antiserums eine deutliche Trübung auftritt, während die heterologen Eiweißlösungen noch nach etwa 20 Minuten klar bleiben müssen. Bei der Prüfung von Menschenantiserum wird das Verhalten gegen das Eiweiß (Blut) der praktisch am meisten in Betracht kommenden Tiere, bei der Prüfung von Pferdeantiserum das Verhalten gegenüber Schweine- und Rinderserum zu bestimmen sein.

[1]) *Wassermann* und *Schütze*, Deutsche med. Wochenschr. Nr. 11 (1903).

Antisera, die den obigen Anforderungen nicht ganz genügen, sind als nur bedingt brauchbar, Antisera, die starke heterologe Trübungen geben, als unbrauchbar zu bezeichnen.

Konservierung.

Die zur Konservierung der präzipitierenden Antisera vorgeschlagenen Zusätze (Chloroform, Karbolsäure, Trikresol, Xylol, Benzol, Toluol, Lysoform, Chinosol, Sublimat, Silbernitrit, Diphtherin, Formalin etc.) haben sich sämtlich nicht bewährt, zum Teil als schädigend erwiesen. *Ehrlich, Neisser* und *Sachs*[1]) empfehlen die Aufbewahrung der Antisera im gefrorenen Zustand (im „Frigo"). *Corin*[2]) und *Stockis*[3]) haben eine Konservierung der Sera durch Trocknen im Vakuum vorgeschlagen. Diese „trockenen Sera" lösen sich aber nach den Erfahrungen *Uhlenhuths*, *Schüllers*[4]) u. a. nach längerem Aufbewahren schlecht und nicht vollkommen klar. Dasselbe gilt für die von *Ottolenghi*[5]) u. a. angegebene Methode der Konservierung präzipitierender Sera auf Fließpapier, die zwar den großen Vorzug der Einfachheit und Materialersparnis hat, aber doch auch den Nachteil der allmählichen Abschwächung der Wirksamkeit und Abnahme der Löslichkeit besitzt. Die Reaktion wird mit den „Reagenzpapieren" so ausgeführt, daß ein mit 0·1 cm^3 Antiserum beschicktes Papierchen direkt in die 1 : 1000 verdünnte, zu untersuchende Eiweißlösung gebracht wird.

Nach den Erfahrungen *Uhlenhuths* halten sich die im flüssigen Zustand steril in braunen Röhrchen im Eisschrank aufbewahrten präzipitierenden Sera jahrelang. Keine der genannten Konservierungsmethoden ist dieser einfachen Aufbewahrung im Eisschrank vorzuziehen. Bei den meisten längere Zeit aufbewahrten Antiseris bildet sich ein grauweißer Bodensatz, der möglicherweise auf „Autopräzipitation", d. h. auf einer Niederschlagsbildung infolge Vorhandensein von Spuren von Präzipitinogen in dem präzipitinhaltigen Serum beruht. Aus diesem Grunde wird von *Uhlenhuth* empfohlen, die Kaninchen, welche ein hochwertiges Antiserum liefern, erst dann zu töten, wenn kein freies Antigen mehr nachzuweisen ist. Der Nachweis dieser latent noch im Antiserum befindlichen präzipitabeln Substanz gelingt nach *W. A. Schmidt* durch das Präzipitin eines anderen ebenso vorbehandelten Tieres.

Aus diesem Grunde wird auch davor gewarnt, zu einer Untersuchung Antisera von verschiedenen Kaninchen zu benutzen; es soll, um ganz sicher zu gehen, stets nur der Inhalt eines Antiserumröhrchens, nicht eine Mischung mehrerer Röhrchen verwendet werden.

[1]) *Ehrlich, Neisser* und *Sachs*, Klin. Jahrb. Bd. **19** (1908).

[2]) *Corin*, Ann. de la Soc. de méd. lég. de Belgique (1901). — Derselbe, Arch. d'anthrop. criminelle. T. **16**. Nr. 94 (1901).

[3]) *Stockis*, Ann. de la soc. médico-chirurg. de Liège. Mai 1901.

[4]) *Schüller*, Zeitschr. f. Milch- u. Fleischhygiene. H. 2 u. 3 (1908).

[5]) *Ottolenghi*, Wiener klin. Wochenschr. Nr. 29 (1906).

Sind stärkere Eiweißausfällungen in den Serumröhrchen eingetreten, so empfiehlt *Uhlenhuth* eine nochmalige Titerbestimmung.

Gang einer Blutuntersuchung.

Wenn es sich nun darum handelt, in einem gegebenen Falle ein verdächtiges Material auf die Herkunft des Blutes zu untersuchen, so ist stets zuerst festzustellen, ob das verdächtige Material überhaupt Blut ist, selbst wenn dies nach dem Ergebnis der richterlichen Untersuchung und dem Aussehen der Flecken sicher zu sein scheint.

Diese Feststellung geschieht mit Hilfe der bekannten chemischen und physikalischen Methoden (s. *Uhlenhuth* und *Weidanz*, Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens), auf die hier nicht näher eingegangen werden kann (*Richter*sche Wasserstoffsuperoxydprobe, *van Deen*sche Guajakprobe, *Teichmann*sche Häminprobe, spektroskopische und mikroskopische Untersuchung).

Die mikroskopische Untersuchung, die bei frischen Blutflecken noch Erfolg verspricht, ermöglicht zugleich auch noch die Feststellung, ob es sich um Säugetier-, Vogel-, Fisch- oder Amphibienblut handelt.

In Ausnahmefällen, wenn das zur Verfügung stehende Untersuchungsmaterial zu gering ist, empfiehlt es sich, auf die Vorproben zu verzichten oder nur die wenig Material erfordernde spektroskopische Untersuchung auszuführen und sofort das Material zur biologischen Reaktion zu verwenden.

Ehe man jedoch an die Ausführung dieser Reaktion geht, hat man sich durch einen Vorversuch davon zu überzeugen, daß man ein brauchbares spezifisch wirkendes Antiserum besitzt. Diese Vorprüfung wird an derjenigen Blutart, auf die das Untersuchungsmaterial untersucht werden soll, ausgeführt, also z. B. an Menschenblut, wenn der zu untersuchende Blutflecken auf Menschenblut verdächtig ist.

Man hält sich darum zweckmäßig die wichtigeren Blutarten auf Fließpapier oder sonstwie getrocknet vorrätig. Man würde also in dem gewählten Beispiel eine kleine Menge des angetrockneten Testmenschenblutmaterials in ein Reagenzglas bringen und mit etwa 5 cm^3 steriler physiologischer Kochsalzlösung — ohne zu schütteln — extrahieren, bis eine genügende Menge Eiweiß in Lösung gegangen ist, was man an der gelblichweißen Farbe erkennt, sowie daran, daß beim Schütteln einer in ein zweites Reagenzglas übergegossenen Probe Schaumbildung auftritt, die längere Zeit stehen bleibt.

Für die biologische Blutuntersuchung verlangt *Uhlenhuth* eine Eiweißverdünnung von etwa 1:1000; macht man mit etwa 1 cm^3 einer solchen Verdünnung unter Zusatz von 1 Tropfen einer 25%igen Salpetersäure (bei Verwendung einer 1 cm^3-Pipette) die Kochprobe, so entsteht eine leicht opaleszierende Eiweißtrübung.

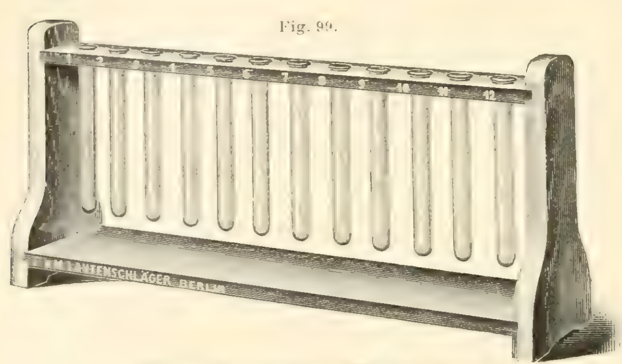
Im allgemeinen ist die ausgelaugte Blutlösung konzentrierter und muß so weit verdünnt werden, bis die salpetersaure Kochprobe die Verdünnung von etwa 1:1000 anzeigt.

Für die Ausführung der Reaktion sind verschiedene Reagenzglasmodelle und -gestelle angegeben worden, von *Uhlenhuth* und *Beumer*, von *E. Friedberger*, von *W. A. Schmidt*, von *Hauser* und *Carnrath*. Am zweckmäßigsten dürfte das von *Uhlenhuth* und *Beumer* angegebene Reagenzglasgestell sein (Fig. 99).

„Es ist so eingerichtet, daß es für 12 kleine Reagenzröhrchen von je 11 *cm* Länge und 0·9 *cm* Durchmesser Platz hat. An ihren offenen Enden haben die Röhrchen nach außen umgebogene Ränder, so daß man sie in den Löchern des Gestelles pfeifenartig aufhängen kann. Der Übersichtlichkeit halber sind die Löcher, in welche die Röhrchen hineingehängt werden, mit Nummern 1—12 versehen. Das Aufhängen der Röhrchen hat den Vorteil, daß man die am Boden des Röhrchens auftretende Präzipitinreaktion gut beobachten kann.

Nach Herstellung der geforderten Verdünnung des eventuell zu filtrierenden Testblutmateriales werden mit einer Pipette in Röhrchen 1 und 2 des *Uhlenhuth-Beumer*schen Reagenzglasgestelles je 1 cm^3 der Testblutlösung, in Röhrchen 3 dagegen 1 cm^3 physiologischer (0·85%) Kochsalzlösung gegeben. Mit einer in $^1/_{100}$ cm^3 graduierten Pipette werden sodann in Röhrchen 1 und 3 je 0·1 cm^3 des zu prüfenden, absolut klaren Antiserums, in Röhrchen 2 dagegen 0·1 cm^3 normales, ebenfalls klares Kaninchenserum zugefügt. Ohne zu schütteln, wird im durchfallenden Lichte unter Zuhilfenahme eines schräg gehaltenen schwarzen Hintergrundes beobachtet, ob die Forderung zutrifft, daß in Röhrchen 1 sofort oder spätestens nach 2—5 Minuten eine allmählich dichter werdende Trübung auftritt, während der Inhalt der Röhrchen 2 und 3 klar bleibt. Nach spätestens 20 Minuten muß die Reaktion, die bei Zimmertemperatur ausgeführt wird, beendet sein. Erfüllt das Antiserum diese Forderung, so kann es für die Untersuchung verwendet werden.

Fig. 99.



Reagenzglasgestell nach *Uhlenhuth-Beumer*.

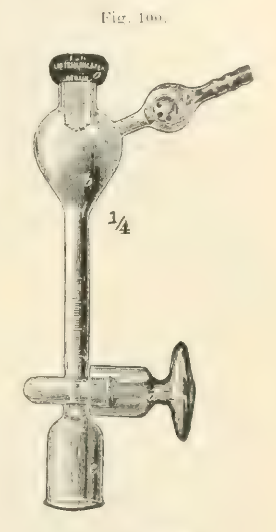
In analoger Weise wie bei dem Vorversuch wird nun eine Lösung des zu untersuchenden Materiales hergestellt, indem man die Blutflecken entweder mit einem reinen Instrument abkratzt (bei festen Unterlagen) und die abgekratzte Masse in 0·85%iger Kochsalzlösung löst, oder indem man die Blutflecken ausschneidet und das ausgeschnittene Stück (eventuell nach Zerkleinerung) in einem Reagenzglas mit 0·85%iger Kochsalzlösung extrahiert. Andere Lösungsmittel als 0·85%ige Kochsalzlösung sollen nach *Uhlenhuth* nicht verwendet werden. Die Auslaugung dauert meist nicht länger als 1 Stunde, bei älterem Material aber zuweilen bis zu 24 Stunden.

Die ausgelaugte Eiweißlösung wird sodann filtriert durch gehärtete Papierfilter (*Schleicher* und *Schüll*, Nr. 575, 603 oder 605), durch einen *Berkefeld*-Filter oder bei geringem Untersuchungsmaterial durch den Mikrofiltrierabfüllapparat (*Uhlenhuth-Weidanz*) (Fig. 100).

Der Apparat (Fig. 100) besteht aus der Kerze *(a)*, die mittelst einer Gummikappe mit der Saugflasche *(b)* in Verbindung steht; das seitliche Ansatzrohr *(c)* sowie die Absaugevorrichtung entspricht genau den weiter unten bei der Filtration beschriebenen Angaben. Das untere zu einem Röhrchen ausgezogene Ende des Sauggefäßes ist genau graduiert, so daß die Flüssigkeit hier direkt gemessen und steril entnommen werden kann.

Hierauf erfolgt die Herstellung der geforderten Verdünnung 1:1000, wie oben beschrieben, und die Prüfung der Reaktion. Die Lösungen sollen neutral reagieren; reagieren sie sauer, so sind sie mit 0·1% Sodalösung zu neutralisieren.

Fig. 100.



Mikrofiltrierabfüllapparat nach *Uhlenhuth-Weidanz*.

Die biologische Reaktion wird nun in folgender Weise ausgeführt: In das *Uhlenhuth-Beumer*sche Reagenzglasgestell werden 7 peinlich saubere Röhrchen gesteckt. Röhrchen 1 und 2 erhält mit einer Pipette je 1 cm^3 der zu untersuchenden Blutlösung; Röhrchen 3 bekommt 1 cm^3 der dem Antiserum entsprechenden Blutlösung (1:1000), Röhrchen 4 und 5 je 1 cm^3 von Kontrollblutlösungen; Röhrchen 6 1 cm^3 steriler 0·85%ige Kochsalzlösung und Röhrchen 7 eventuell 1 cm^3 eines Auszuges des Substrates, auf dem der Blutfleck angetrocknet war.

Die Röhrchen 1, 3, 4, 5, 6 und 7 erhalten nunmehr je 0·1 cm^3 des im Vorversuch geprüften Antiserums, Röhrchen 2 0·1 cm^3 normales absolut klares Kaninchenserum zugesetzt. Der Zusatz erfolgt mit $^1/_{100}$ cm^3-Pipetten.

Am besten läßt man den Serumzusatz an der Wand herunterfließen, so daß die einzelnen Lösungen unterschichtet werden.

Die Röhrchen sollen nicht geschüttelt werden.

In einem positiven Falle muß in Röhrchen 1 und 3 sofort oder spätestens nach 2 Minuten eine hauchartige Trübung, die sich zu einem allmählich deutlicher werdenden Ringe an der Berührungsstelle von Blutlösung und Serum verdichtet, entstehen, während der Inhalt aller übrigen Röhrchen (Kontrollen!) innerhalb der ganzen Untersuchungszeit (20 Minuten) klar bleiben muß. Es sei nochmals hervorgehoben, daß alle zur Verwendung kommenden Lösungen und Materialien (Röhrchen) absolut klar sein müssen. Wenn ein Antiserum nicht ganz klar sein sollte, so kann es durch genügend langes Zentrifugieren in den meisten Fällen geklärt werden. Bakterientrübungen lassen sich auf diese Weise nicht beseitigen; Antisera, die durch Bakterienentwicklung getrübt sind, können nicht mehr gebraucht werden. Um die Aufwirbelung des am Boden der Röhrchen befindlichen

Bodensatzes zu vermeiden, entnimmt man das Serum in diesen Fällen am besten mit einer Kapillarpipette, d. h. mit einem an einem Ende fein ausgezogenen Glasröhrchen, und setzt dann die 0·1 *cm*³ entsprechende Anzahl Tropfen des Serums zu den einzelnen Lösungen.

Fig. 101 *a*.

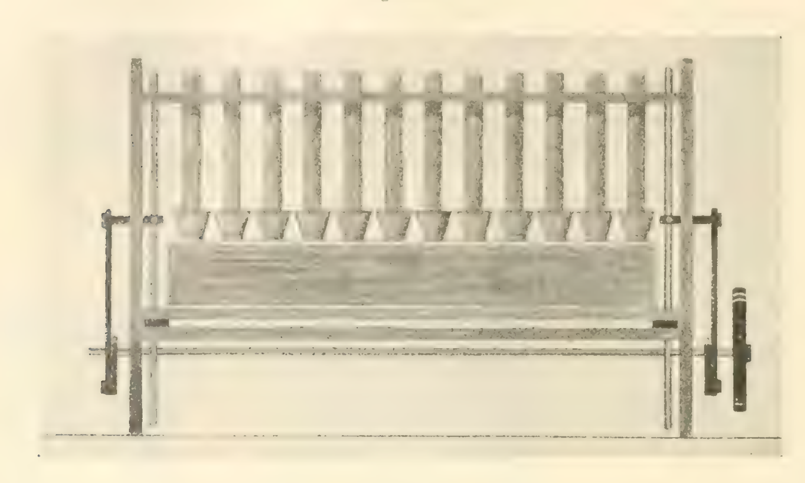
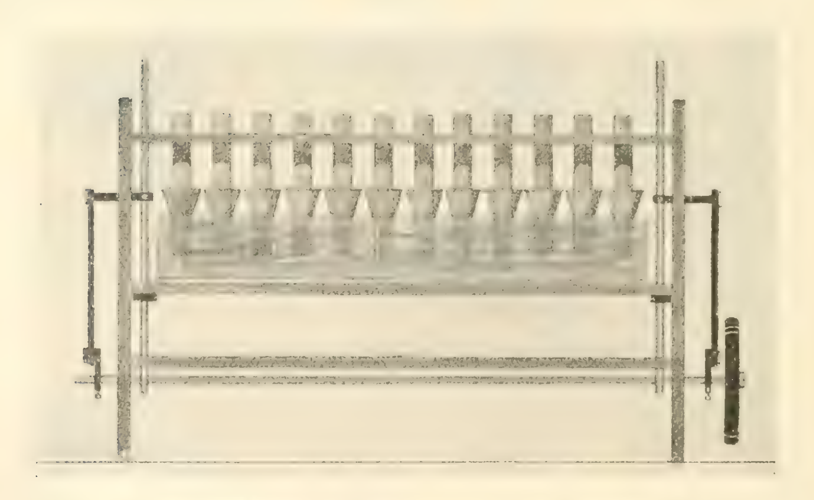


Fig. 101 *b*.



*Dold*scher Apparat zur Beobachtung schwacher Trübungen.

Für eine Reaktion soll, wie schon erwähnt, nur der Inhalt eines Röhrchens verwendet werden. Die Beobachtung der Trübungen geschieht, wie oben angegeben, bei durchfallendem Tages- oder bei künstlichem Licht, indem zwischen Lichtquelle und Röhrchen ein schwarzer Hintergrund hin und her bewegt wird. Es gelingt auf diese Weise auch die zartesten Trübungen zu erkennen. Zur besseren Erkennung schwacher Trübungen ist

von *Dürck*[1]) ein Apparat angegeben worden, dessen Prinzip „auf der vollständigen Auslöschung aller Reflexe an den Wandungen der runden *Uhlenhuth*schen Röhrchen durch Eintauchen derselben in Zedernöl" beruht (Fig. 101 *a* u. *b*).

„Da das Zedernöl bekanntlich den gleichen Brechungsindex hat wie Glas, so ist ein mit Zedernöl gefülltes Röhrchen, welches man in ein weiteres Zedernöl enthaltendes Glasgefäß taucht, überhaupt nicht mehr sichtbar. Befindet sich in dem Röhrchen irgend eine andere Flüssigkeit, so werden allerkleinste Trübungen oder in dieser suspendierte Teilchen mit großer Deutlichkeit sichtbar, weil der Lichtreflex an den äußeren Wandungen des Röhrchens ausgelöscht ist. Auf dem gleichen Prinzip beruht bekanntlich unsere homogene Ölimmersion, nämlich auf einer Vermeidung des Lichtverlustes an der Trennungsfläche verschieden lichtbrechender Medien. Bei dem in Rede stehenden Apparat wird das Zedernöl in ein langes Glaswännchen eingefüllt, welches aus gut verkitteten Spiegelglastafeln besteht. Die hintere, die beiden seitlichen und die untere Glastafel sind außen geschwärzt zur Vermeidung störender Reflexe, nur die vordere ist durchsichtig. Dieses Wännchen paßt genau in ein Reagenzglasgestell für 12 *Uhlenhuth*sche hängende Reagenzröhrchen. Das Gestell ist derartig eingerichtet, daß der Boden, auf welchen das Wännchen zu stehen kommt, durch eine einfache Triebvorrichtung in die Höhe gehoben und in jeder Höhe fixiert werden kann. Ist der Doppelboden, auf welchen das Wännchen zu stehen kommt, nach abwärts gestellt, so hängen die Röhrchen frei in der Luft und ihr Inhalt kann im durchfallenden Licht beurteilt werden. Stellt man den Doppelboden und dadurch das Wännchen mit Hilfe des Triebes nach oben, so tauchen alle 12 Röhrchen auf einmal in das Zedernöl ein, jedoch so, daß sie auch bei allerhöchster Stellung den Boden des Wännchens nicht berühren. Um nun auch noch das von oben her in das Zedernöl einfallende Licht möglichst auszuschalten, ist das Wännchen oben mit einem Metalldeckel bedeckt, welcher genau den herabhängenden Röhrchen entsprechende und entsprechend weite Öffnungen trägt. Diese sind zum weiteren Lichtschutze nach oben mit einer Art von Trichter versehen, so daß auch bei dem Emporsteigen des Wännchens jedes Röhrchen genau durch den Trichter und durch die Öffnung in dem geschwärzten Metalldeckel in das Zedernöl hineingeleitet wird.

Die Anwendung des Apparates geschieht in der Weise, daß man nach Füllung des Wännchens mit Zedernöl, Beschickung der Röhrchen und Ausführung der Reaktion das Wännchen hoch stellt und dann das volle Licht von einem gut beleuchteten Fenster durch die Spiegelglasplatte hindurchfallen läßt. Man stellt sich also mit dem Rücken gegen die Lichtquelle und beobachtet im auffallenden Lichte.

Der kleine Apparat wird vielleicht auch für die Ausführung von spezifischen Agglutinationsproben sowie für die Beobachtung feiner chemi-

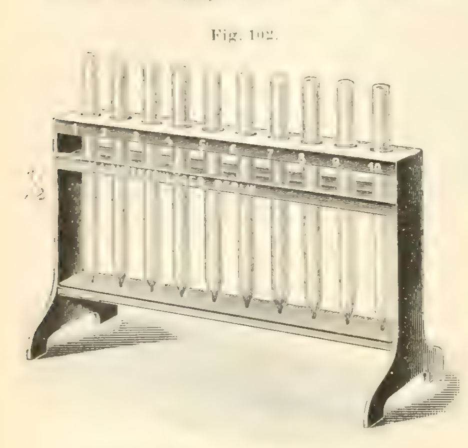
[1]) *H. Dürck*, Anthropol. Gesellschaft. München. 25. Januar 1907.

scher auf der Bildung von Niederschlägen beruhender Reaktionen gute Dienste leisten können."

Um auch noch die Untersuchung kleinster Blutmengen zu ermöglichen, ist von *G. Hauser* eine sogenannte Kapillarmethode angegeben worden, die sich auch sonst z. B. beim Nachweis der Herkunft von Blut in blutsaugenden Insekten (*Uhlenhuth*, *Weidanz* und *Angeloff*) gut bewährt hat. Die Methode ist von *Carnwath* im *Uhlenhuth*schen Laboratorium etwas modifiziert worden: es wird nach dieser modifizierten Methode folgendermaßen verfahren:

„Die winzigen Blutspuren werden mit etwa 0·2 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung in der oben angegebenen Weise extrahiert. Ob die für die biologische Reaktion genügende Menge Eiweiß in Lösung übergegangen ist, kann man daran erkennen, daß die durch das Hineinblasen von Luft in die Untersuchungsflüssigkeit entstehenden Blasen etwa $^1/_2$ Minute stehen bleiben. Die hieran jetzt anzuschließende Salpetersäurekochprobe wird so ausgeführt, daß man in einem sterilen Kapillarröhrchen etwas Untersuchungsflüssigkeit bis zur Höhe von etwa 2 *cm* aufzieht, dann das Röhrchen, nachdem die Flüssigkeit einige Zentimeter höher aufgezogen, an dem unteren Ende zuschmilzt. Durch Hineintauchen der Kapillare in kochendes Wasser wird nunmehr die Untersuchungsflüssigkeit ebenfalls zum Sieden gebracht. Nunmehr wird das zugeschmolzene Ende abgebrochen und die erhitzte Eiweißlösung auf einen reinen Objektträger mit etwa dem vierten Teil 25%iger Salpetersäure zusammengebracht und gut gemischt. Tritt hierbei eine leicht opaleszierende Trübung auf, so ist die für die Reaktion vorschriftsmäßige Verdünnung vorhanden.

Fig. 102.



Reagenzglasgestell für die Kapillarmethode (*Hauser-Carnwath*).

Zur Ausführung der Reaktion benutzt man ein kleines Metallgestell (Fig. 102), welches für 10 Röhrchen von 2 *mm* Durchmesser und 6 *cm* Länge Platz hat. Die Röhrchen stellt man sich jedesmal vor Ansetzen der Reaktion aus einem gereinigten Glasrohr selbst her. In die einzelnen Röhrchen werden bis zu einer Höhe von etwa 3 *mm* zuerst die in Frage kommenden Sera eingefüllt. Man bedient sich hierzu zweckmäßig der oben beschriebenen Kapillarpipette. Dann überschichtet man die einzelnen Sera vorsichtig mit der Untersuchungsflüssigkeit und den einzelnen Kontrolllösungen ebenfalls bis zu einer Höhe von 3 *mm*. Bei positivem Ausfall der Reaktion tritt dann genau wie bei der *Hauser*schen Methode an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten ein deutlicher Ring auf, der sich nach oben immer mehr verbreitert, um sich später als flockiger Niederschlag in der Kuppe des Röhrchens anzusammeln. Bei dieser Methode kann man bequem mit 0·1 cm^3 Untersuchungsflüssigkeit auskommen."

Die für die biologische Reaktion geforderten 5—6 Kontrollen (Röhrchen 2, 3, 4, 5, 6 und eventuell 7) sind absolut notwendig. Sie zeigen 1. daß normales Kaninchenserum keine Trübung erzeugt (Röhrchen 2), 2. daß das verwendete Antiserum spezifisch wirksam ist (Röhrchen 3, 4 und 5), 3. daß das Antiserum an sich klar ist und auch in der zur Herstellung der Blutlösungen benutzten physiologischen Kochsalzlösung selbst keine Trübung hervorruft (Röhrchen 6), 4. daß das Antiserum in einem Extrakt des Stoffes, an dem das Blut angetrocknet war, keine Trübung erzeugt (Röhrchen 7).

Heterologe Trübungen treten nach den Erfahrungen der berufensten Autoren nur auf, wenn konzentrierte Blutlösungen bei Zusatz hochwertigen Antiserums verwendet werden und lassen sich vermeiden, wenn man entweder eine konzentrierte Blutlösung und ein schwach wirkendes Antiserum *(Kister, Wolf, Strube)* oder eine schwache Blutlösung und ein hochwertiges Antiserum *(Uhlenhuth)* nimmt.

Zur Ausschaltung heterologer Trübungen bedarf man dennoch in der Praxis der von *Kister* und *Weichardt*[1]) angegebenen, theoretisch interessanten, aber umständlichen Methode der „spezifischen Absättigung" (s. oben) nicht.

Dagegen hat man bei der Beurteilung des Untersuchungsergebnisses die Tatsache der Verwandtschaftsreaktion zu berücksichtigen; man würde, wenn man in einer Blutlösung z. B. eine positive Reaktion mit einem Menschenantiserum erhielte, sagen müssen, daß das Blut von einem Menschen oder Affen stammt, oder anders ausgedrückt, daß das Blut von einem Menschen stammt, falls Affenblut auszuschließen ist.

Man kann zwar durch die allerdings sehr diffizile „elektive Absättigungsmethode" nach *Weichardt*, besser noch durch die von *Uhlenhuth* angegebene Methode der „kreuzweisen Immunisierung", d. h. dadurch, daß man bei verwandten Tieren, wie Mensch und Affe, Hase und Kaninchen, Huhn und Taube etc., durch gegenseitige Einspritzung ihres Blutes aufeinander wirkende Präzipitine erzeugt, auch die verwandten Tierarten noch differenzieren, aber diese Methode ist doch ziemlich kompliziert und gelingt auch nicht bei allen Tieren.

Für die Praxis genügt aber meist die oben näher ausgeführte Differenzierung und ein mit den genannten Einschränkungen gegebenes Gutachten.

Auf die vielen bei der Erstattung von forensischen Gutachten noch zu berücksichtigenden Punkte kann hier nicht eingegangen werden; es sei auf das schon mehrmals erwähnte Buch von *Uhlenhuth* und *Weidanz* verwiesen, in welchem gerade auch die gutachtliche Seite dieser Frage eingehend behandelt ist.

Um bei positivem Ausfall der *Uhlenhuth*schen Blutreaktion in der forensischen Praxis noch eine größere Beweiskraft zu verleihen, empfiehlt *Dehne*[2]) noch das Verfahren der oben schon erwähnten „spezifischen Losung". Es werden 1 : 1000 verdünnte Blutlösungen von Menschen und verschiedenen Tierarten mit je 0·1 cm^3 Menschenantiserum vermischt, der Inhalt der Röhrchen, in denen spezifische Trübung eintritt, wird in 4 Teile geteilt und jeder Teil in ein Reagenzglas gebracht. Von diesen 4 Reagenzröhrchen erhält das erste unverdünntes homologes Menschenantiserum, das zweite und dritte unverdünntes heterologes Antiserum, das vierte Kochsalzlösung. Nach $^1/_2$stündigem Aufenthalt im Thermostaten und 24stündigem bei Zimmertemperatur zeigt nur das Röhrchen mit Menschenantiserumzusatz Klärung.

Diese *Dehne*sche Modifikation des *Uhlenhuth*schen Verfahrens hat keine praktische Bedeutung gewonnen.

---

[1]) ***Kister*** und ***Weichardt***, Zeitschr. f. Medizinalbeamte. Nr. 20 (1902).

[2]) ***Dehne***, Münchener med. Wochenschr. Nr. 8 (1907).

Gang einer Fleisch- bzw. Wurstuntersuchung.

Die Präzipitinreaktion kann weiterhin mit Erfolg angewendet werden, wenn es sich darum handelt, die Herkunft eines Fleisches oder den Gehalt eines Fleischgemisches (Hackfleisch, Wurst) an unerlaubten Fleischbeimengungen zu prüfen. Die Reaktion ist nicht bloß ausführbar bei frischem, sondern auch bei gefrorenem, getrocknetem, geräuchertem, gepökeltem, faulendem und bis zu einem gewissen Grade auch noch bei gekochtem Fleisch und Fleischgemischen. Ferner läßt sich außer mit dem Muskelgewebe die Reaktion auch mit Därmen (z. B. Untersuchung auf Pferdedärme), deren Einfuhr verboten ist, in manchen Fällen auch mit Fettgewebe ausführen.

Die Herstellung der für die Reaktion nötigen Eiweißlösungen ist bei der Untersuchung von Fleisch im großen und ganzen dieselbe wie bei der von Fleischgemischen (Wurst).

Es werden von einer womöglich frisch mit ausgeglühtem oder ausgekochtem Messer hergestellten Schnittfläche des Fleisches ca. 30 *g* entnommen und auf einer absolut sauberen Unterlage zerkleinert. Man vermeide fette Partien des Fleisches, da diese die Gewinnung einer klaren Lösung erschweren. Die zerkleinerte Fleischmasse wird in ein durch Kochen oder trockene Hitze sterilisiertes, 100 cm^3 fassendes *Erlenmeyer*sches Kölbchen mit Hilfe eines sterilisierten Glasstabes gebracht, mit ca. 50 cm^3 steriler 0·85%iger Kochsalzlösung übergossen und ca. 3 Stunden bei Zimmertemperatur oder 24 Stunden bei Eisschranktemperatur extrahiert.

Schütteln ist der Gewinnung einer klaren Lösung schädlich. Zusatz von einigen Tropfen Chloroform, besonders bei fettem Fleisch, zu empfehlen.

Auch bei der Fleischuntersuchung sollen keine anderen Lösungsmittel als 0·85%ige Kochsalzlösung verwendet werden.

Gesalzenes Fleisch kann erst durch mehrmaliges Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung oder destilliertem Wasser entsalzt werden, ehe es zur Extraktion angesetzt wird. Die Auslaugung findet bei frischem Fleisch rascher, bei geräuchertem oder gepökeltem Fleisch langsamer statt, doch wird die Extraktionszeit von 24 Stunden in jedem Falle genügen.

Für die biologische Fleischuntersuchung hat sich eine Lösung von 1 Teil Eiweiß in 300 Teilen Wasser am günstigsten erwiesen; es gibt nämlich ein 1:300 verdünnter reiner Muskelsaft bei Verwendung desselben Antiserums etwa dieselbe prompte und starke Reaktion wie eine homologe Serumverdünnung von 1:1000.

Die richtige Konzentration des Fleischauszuges läßt sich weniger durch die Schaumbildung beim Schütteln als durch den Ausfall der analog wie bei der Blutuntersuchung angestellten Salpetersäurekochprobe ermitteln: Es muß beim Kochen von ca. 1 cm^3 des Auszuges und Zusatz von 1 Tropfen 25%iger Salpetersäure eine starke Fällung auftreten, die sich sofort als flockiger Niederschlag zu Boden senkt.

Meist sind die Auszüge zu konzentriert und müssen entsprechend verdünnt werden.

Da die Eiweißlösungen absolut klar sein müssen, so werden sie vor dem Ansetzen der Reaktion ein- oder mehrmals filtriert, und zwar entweder durch gehärtete, vorher mit 0·85%iger Kochsalzlösung angefeuchtete Papierfilter (*Schleicher & Schüll*, Nr. 575, 603 und 605) oder durch ausgeglühte Kieselgur im *Buchner*schen Trichter oder durch *Berkefeld*sche Kieselgurkerzen.

Die Herstellung der für die Untersuchung von Fleischgemischen (Hackfleisch, Wurst) nötigen Auszüge erfolgt in analoger Weise. Auch hier hat man die fetten Partikel auszusondern und außerdem bei Würsten das Material möglichst aus der Mitte (in genügender Entfernung von der häufig aus Pferdedärmen hergestellten Wurstschale) zu entnehmen.

Man extrahiert bei Würsten besser größere Mengen (ca. 50 *g*) als bei Fleisch, da sie doch verhältnismäßig wenig verbotene Fleischbeimengungen enthalten.

Im übrigen wird wie bei der Herstellung der Fleischauszüge verfahren.

Ehe die biologische Untersuchung vorgenommen wird, sollen die Auszüge auf ihre Reaktion geprüft werden: dieselbe soll neutral sein und muß eventuell korrigiert werden.

Bei der biologischen Fleisch- bzw. Wurstuntersuchung handelt es sich in praxi fast immer um eine Untersuchung auf Pferdefleisch.

Man braucht demnach ein Pferdeantiserum, von dessen Wirksamkeit man sich in einem Vorversuch überzeugen kann; notwendig ist dieser Vorversuch nicht, da man bei diesen Untersuchungen in der Regel genügend Material zur Verfügung hat, um, wenn nötig, die Reaktion mehrmals zu wiederholen.

Dagegen braucht man zur Kontrolle Auszüge von 1. sicherem Pferdefleisch bzw. von sicherer Pferdefleischwurst (ca. 30% Pferdefleisch enthaltend), 2. einen Auszug von Rindfleisch, 3. einen Auszug von Schweinefleisch, 4. normales Kaninchenserum und 5. die zur Herstellung der Auszüge verwendete 0·85%ige Kochsalzlösung.

Man braucht für eine biologische Fleisch- bzw. Wurstuntersuchung 6 absolut klare Röhrchen, die in dem *Uhlenhuth-Beumer*schen Reagenzglasgestell aufgehängt werden.

In Röhrchen 1 und 2 wird je 1 cm^3 des zu untersuchenden Fleisch- bzw. Wurstauszuges gebracht; in Röhrchen 3 kommt 1 cm^3 des sicheren Pferdefleisch- bzw. Pferdewurstauszuges; in Röhrchen 4 und 5 je 1 cm^3 des Rind- und Schweinefleischauszuges bzw. eines Auszuges von reiner Rind- und Schweinefleischwurst; in Röhrchen 6 1 cm^3 der zur Herstellung der Auszüge benutzten Kochsalzlösung.

Selbstverständlich muß für die Beschickung der Röhrchen 3, 4, 5 und 6 je eine frische, absolut reine Pipette genommen werden, während für Röhrchen 1 und 2 eine Pipette genügt.

Nunmehr gibt man mit einer $^1/_{10}$ cm^3-Pipette (oder mit einer Kapillarpipette) in Röhrchen 1, 3, 4, 5 und 6 je 0·1 cm^3 des klaren hochwertigen Pferdeantiserums, während Röhrchen 2 0·1 cm^3 klaren normalen Kaninchenserums erhält.

Am besten läßt man auch hier das Serum an der Wand der Röhrchen herunterfließen, um eine Unterschichtung der zu untersuchenden Lösungen zu erzielen.

Ohne zu schütteln, werden die Röhrchen sofort beobachtet, indem man wieder zwischen Röhrchen und Lichtquelle einen schräg gehaltenen schwarzen Hintergrund hält bzw. auf und ab bewegt.

In einem positiven Falle bemerkt man fast momentan, spätestens nach etwa 2 Minuten, in Röhrchen 1 und 3 eine hauchartige, allmählich sich verdichtende Trübung auftreten, während der Inhalt aller anderen Röhrchen noch nach 20—30 Minuten klar ist.

Dasselbe, was bei der Besprechung der Blutuntersuchung über heterologe Trübungen gesagt worden ist, gilt auch für die Fleisch- bzw. Wurstuntersuchung.

Die Verwandtschaftsreaktion ist insofern zu berücksichtigen, als es nicht möglich ist, präzipitatorisch Pferdefleisch vom Fleisch von verwandten Tieren, wie Esel, Maulesel etc., zu unterscheiden, doch ist das praktisch gleichgültig, da das Vorhandensein dieser Fleischarten (in anders deklarierten Waren) ebenso zu beurteilen ist wie das Vorhandensein von Pferdefleisch.

Eine gewisse Einschränkung erleidet der Wert der Präzipitationsreaktion dadurch, daß sie versagt, wenn durch Kochen alle reaktionsfähigen Eiweißkörper vollständig zerstört sind. Dazu gehört aber schon eine längere und bis ins Innere des Fleisches und der Würste dringende Einwirkung der Hitze, wie sie in praxi nicht immer statthat, so daß man auch bei gekochtem Fleisch und gekochten Würsten noch in jedem Fall die Reaktion versuchen soll.

Nach neueren Untersuchungen von *W. A. Schmidt*[1]) soll es möglich sein, mit alkalischen (NaOH) Extrakten aus erhitztem Eiweiß (30 Minuten bei 70° C) Präzipitine zu gewinnen, welche mit einer alkalischen (NaOH) Lösung des durch Hitze koagulierten homologen Eiweißes reagieren.

Auch bei Fettgewebe und bei ausgelassenem Fett (Schmalz) kann man mitunter mit Hilfe der Reaktion noch die Herkunft bestimmen, dann nämlich, wenn sich noch genügende Mengen reaktionsfähigen Eiweißes extrahieren lassen. *Uhlenhuth* und *Hüne* empfehlen für die Verarbeitung des Fettgewebes folgendes Verfahren:

„Zerschaben des Fettgewebes und Entfernen des Fettes durch wiederholtes Zusetzen von auf 37° C angewärmtem Benzin: Umrühren und vorsichtiges Abgießen der Flüssigkeit vom Bodensatz. Wiederholtes Verreiben des Rückstandes in einem auf 35—40° C angewärmten Mörser und Ausziehen mit Benzin, bis das abgegossene Benzin auf Papier keinen Fleck hinterläßt und der Rückstand eine reine Fleischfarbe (beim Pferdefleisch dunkelbraun, beim Schweinefleisch rosa usw.) annimmt. Trocknen des Rückstandes im Brutschrank (bei 37° C). Die Masse muß vollständig trocken und faserig-bröckelig sein. Die weitere Benutzung des so vorbereiteten Zellgewebes durch Ausziehen mit Wasser (destilliertes Wasser hat sich besser bewährt

[1]) *W. A. Schmidt,* The Cairo Scientific Journal. Nr. 62. Vol. 5. Nov. 1911.

als Kochsalzlösung) geschieht in der in den *Uhlenhuth*schen Veröffentlichungen angegebenen Weise.“

C. Nachweis und Differenzierung von anderen eiweißhaltigen Nahrungs- und Genußmitteln.

Auch bei anderen eiweißhaltigen Nahrungsmitteln ist die Präzipitationsmethode mit Erfolg zur Erkennung von Verfälschungen angewandt worden, so bei angeblich Eiereiweiß bzw. -eigelb enthaltenden Nahrungsmitteln (Nudeln, Margarine) und Nährpräparaten (*Uhlenhuth*, *Ottolenghi*, *Schütze*, *Galli-Valerio* und *Bornand*[1]), *Emmerich*[2]).

Man hat auch verschiedentlich mit Hilfe der Präzipitinreaktion den Kaviar von anderen Fischrogen differenziert und so die Möglichkeit, Verfälschungen zu erkennen, erwiesen (*Uhlenhuth* und *Einecker*, *Schern*, *Kodama*[3]).

Nach *Kodama* kommt die Familienverwandtschaft zwischen verschiedenen Fischen in der Präzipitinreaktion deutlich zum Ausdruck. Auch die verschiedenen Kaviararten reagieren untereinander in gleicher Weise, während das Fischrogeneiweiß sich durch die Präzipitinreaktion scharf von dem Fischfleischeiweiß bei ein und demselben Tier unterscheiden läßt (*Uhlenhuth*, *Dunbar*, *Kodama*).

Eine größere praktische Bedeutung hat die Anwendung der Präzipitationsmethode für die Unterscheidung von Natur- und Kunsthonig gewonnen. Nach *König* enthält der natürliche Honig zwischen 0·03% und 2·67%, im Mittel 1·42% Eiweiß. Es war also von vornherein zu erwarten, daß sich wirksame Honigantisera gewinnen lassen.

Langer und *v. Riegler* haben als erste durch Vorbehandlung von Kaninchen mit Honigeiweiß präzipitierende Antisera gegen Honig hergestellt und ihre Angaben sind durch *Galli-Valerio* und *Bornand* bestätigt worden. Diese letzteren Autoren geben an, daß mit Honigeiweiß hergestellte Antisera Honigeiweiß, auch wenn es bei Verfälschungen nur in geringen Mengen vorhanden ist, ferner den Extrakt von Bienen und Hummeln, Melasse dagegen nicht ausfällen. Präzipitierende Sera, die mit Bienenextrakt hergestellt sind, präzipitieren außer dem Bienenextrakt noch Honigeiweiß, dagegen nicht den Extrakt von Hummeln. Es ist also auf diese Weise möglich, die echten, von Bienen stammenden Honige zu erkennen und nach *Langer* kann man auch durch genaue Beobachtung der Präzipitatmenge einen Schluß auf den Grad der Verfälschung ziehen.

Eine sehr gründliche Nachprüfung und eine Bestätigung aller dieser Angaben hat die Arbeit von *Thöni* gebracht, der auf Grund seiner Untersuchungsergebnisse ein Verfahren zur serologischen Honiguntersuchung ausgearbeitet hat.

Die Prüfung von 90 Honigproben und Zuckerarten mittelst der quantitativen Präzipitinreaktion ergab, daß

---

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. etc. Bd. **14**. H. 1 (1912).

[2]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. etc. Bd. **17**. H. 3 (1913).

[3]) Arch. f. Hyg. Bd. **78**. H. 6.

1. bei Zuckerarten kein Präzipitat auftrat;

2. Kunsthonige entweder wie Zuckerarten sich verhielten und gar kein Präzipitat oder nur bei 10- resp. 15%igen Lösungen sehr kleine Mengen von Präzipitat lieferten;

3. bei echten Bienenhonigen die mit dem gleichen Antihonigserum ermittelten Schichthöhen der Präzipitate nur innerhalb kleiner Grenzen schwankten und stets auch bei 1% Lösungen noch ein deutlich sichtbares Präzipitat gebildet wurde;

4. bei Mischhonigen aus echtem Bienenhonig und Kunsthonig die Präzipitatsäulchen entsprechend der Abnahme des Bienenhonigs in der Mischung kleiner ausfielen;

5. Fütterungshonige deutlich geringere Präzipitatmengen ergaben, als echte reine Bienenhonige;

6. bei gärenden Honigproben die Menge des gebildeten Präzipitates, verglichen mit denjenigen, die bei echten Naturhonigen erhalten wurden, nicht abnahm.

Nach dem von *Thöni* ausgearbeiteten Verfahren wird zunächst die Wirksamkeit eines bestimmten Antihonigserums an 1%-, 2%- und 10%igen Lösungen sicheren Bienenhonigs geprüft. Es werden dann Mischungen desselben Antiserums mit 1%-, 2%- und 10%igen Lösungen des Untersuchungsmaterials in gleichen Mengenverhältnissen wie bei der Vorprüfung hergestellt und schließlich die bei der Vorprüfung und der eigentlichen Reaktion entstandenen Präzipitatmengen miteinander verglichen. Gleiche oder größere Präzipitatmengen bei dem Untersuchungsmaterial im Vergleich zu der Präzipitatmenge des Kontrollhonigs lassen auf Echtheit des Untersuchungshonigs schließen, wesentlich kleinere Präzipitatmengen des Prüfungsmaterials, als sie bei dem Kontrollhonig auftraten, zeigen Verfälschung von Bienenhonig mit Kunsthonig an, während das gänzliche Fehlen oder das Vorkommen sehr kleiner Mengen nur in der 10%igen Lösung des Untersuchungsmaterials auf Kunsthonig bzw. Honig, dessen Eiweißstoffe irgendwie zerstört worden sind, hindeutet. Zur richtigen Beurteilung des letztgenannten Falls sei bemerkt, daß bei der Gewinnung von Bienenhonig eine Schädigung oder gar Vernichtung der Eiweißstoffe nicht vorkommt.

Wenig aussichtsreich erscheinen Versuche, die im Handel vorkommenden Verfälschungen von Olivenöl mit Hilfe der Präzipitationsmethode zu erkennen. Für die von verschiedenen Seiten schon aufgestellte Behauptung, daß auch Fette Antikörper zu bilden vermögen, fehlen bis heute noch sichere Beweise. Wenn verschiedene Autoren durch Vorbehandlung von Kaninchen mit einigen Ölen Antisera erhielten, die mit den wässerigen Auszügen der Öle geringfügige Niederschläge gaben, so lassen sich diese Beobachtungen durch die Annahme erklären, daß diese Öle geringe Eiweißmengen beigemischt enthielten.

Untersuchungsmethoden biochemisch wichtiger Lichtwirkungen.

Von **H. v. Euler,** Stockholm.

Einleitung.

Das Studium der biochemisch wichtigen Lichtwirkungen befindet sich, wie die gesamte wissenschaftliche Photochemie, in der ersten Entwicklung. Demgemäß ist die Zahl der ausgearbeiteten und feststehenden Methoden in diesem Gebiet noch sehr gering, und man kann sich bei der Darstellung der einschlägigen Untersuchungsmethoden nicht, wie in anderen Forschungsbereichen, auf die Angabe beschränken, wie in den einzelnen Fällen gearbeitet worden ist, vielmehr hat der Verfasser es als seine Aufgabe angesehen, auf die Grundsätze, Gesichtspunkte und Erfahrungen hinzuweisen, welche der Biochemiker bei experimentellen photochemischen Untersuchungen zu berücksichtigen hat.

Bezüglich der Grenzen dieser Darstellung sind folgende Überlegungen maßgebend gewesen:

Von biologischer, besonders von botanischer Seite, ist festgestellt, daß eine nicht geringe Anzahl fundamentaler biochemischer Vorgänge durch das Licht ausgelöst oder beschleunigt werden. Die Aufgabe des Biochemikers ist es nun, diese Lichtwirkungen zunächst qualitativ zu beschreiben, also zu ermitteln, welche Strahlen hierbei wirksam sind, welche Bestandteile der vom Licht getroffenen Organe photochemisch verändert werden, und welche Stoffe aus ihnen entstehen. Damit ist aber das Problem noch nicht erschöpft. Man wird sich einerseits fragen, in welcher Weise der studierte Vorgang mit dem Stoff- und Energiewechsel des Organs zusammenhängt, andererseits, wie er mit den Gesetzen der Photochemie in Übereinstimmung zu bringen ist, also zunächst in welcher Beziehung der chemische Umsatz mit der einstrahlenden und der absorbierten Lichtmenge steht. Die Beantwortung dieser Frage erfordert aber die Kenntnis bzw. eine Untersuchung der Absorption der in Betracht kommenden Strahlen durch die lichtempfindlichen Stoffe.

Ferner ist es für das Verständnis der lichtempfindlichen Lebenserscheinungen erforderlich, zu ermitteln, ob es sich um die Verschiebung von

Gleichgewichten oder um die Beschleunigung von Reaktionsgeschwindigkeiten handelt. In letzteren — den häufigeren — Fällen kommen also Zeitmessungen zur Anwendung, wie sie im Gebiet der chemischen Dynamik üblich sind. Bei diesen Messungen spielt einerseits die Temperatur eine Rolle und, wie in nicht belichteten Systemen, die Anwesenheit von Katalysatoren, welche hier ziemlich allgemein als Sensibilisatoren bezeichnet werden.

Man wird sich bei diesen zu biologischen Zwecken angestellten Studien von vornherein nicht immer an diejenigen Bedingungen halten, welche im lebenden Organismus vorwalten, ebensowenig wie der physiologische Chemiker sich bei der Untersuchung pflanzlicher und tierischer Stoffe auf das Studium derjenigen Vorgänge beschränkt, welche vermutlich im lebenden Organismus eintreten. Vielmehr wird man die biologisch wichtigen Substanzen auf ihre allgemeine Lichtempfindlichkeit untersuchen und sich dann fragen, welche der eingehaltenen Versuchsbedingungen im lebenden Organismus statthaben. Der Biochemiker wird sich also bei photochemischen Arbeiten nicht darauf beschränken, Lösungen von der Zusammensetzung natürlicher Säfte und Zellen den Sonnenstrahlen auszusetzen, sondern wird systematisch die Einwirkung von Strahlen, Katalysatoren und äußeren Versuchsbedingungen auf die interessierenden Substrate isoliert zur Erscheinung zu bringen suchen.

Gerade bei photochemischen Untersuchungen ist es beinahe unumgänglich, die Versuchsbedingungen quantitativ festzustellen, also insbesondere die Intensität und Wellenlänge des einfallenden Lichtes so genau als möglich anzugeben. Es können sonst unter anscheinend ganz gleichen Bedingungen ausgeführte Versuche in bezug auf Ausbeuten zu ganz widersprechenden Resultaten führen.

Die Untersuchung der Lichtwirkung der einzelnen Spektralgebiete ist um so notwendiger, als die Arbeiten der letzten Jahre gezeigt haben, daß umkehrbare Reaktionen bestehen, welche in der einen Richtung durch kurzwelliges Licht, in der anderen Richtung durch langwellige Strahlen beschleunigt werden. Biologisch wird es sich darum handeln festzustellen, welches Gleichgewicht sich durch die gleichzeitige Einwirkung zweier Lichtarten ergibt.

Demgemäß wird man sich bei quantitativen Untersuchungen nicht auf die Anwendung des Sonnenlichtes beschränken, sondern auch künstliche Lichtquellen benutzen, deren Strahlung sich längere Zeit konstant halten und leicht reproduzieren läßt. Dies ist auch tatsächlich bereits bei einer Reihe sehr bemerkenswerter photobiochemischer Arbeiten geschehen, welche noch näher zu besprechen sein werden.

Das erste Kapitel der folgenden Darstellung wird demgemäß die Lichtquellen behandeln.

Die ausgesandte Lichtmenge kommt nur zur Wirkung, wenn sie ihr im Wege stehende Gegenstände zu durchdringen vermag und wenn sie von dem lichtempfindlichen System absorbiert wird. Die Absorption des

Lichtes in Lösungen und durch feste Stoffe, besonders durch das Material von Reaktionsgefäßen und durch Lösungsmittel ist deswegen von höchster Bedeutung und wird im zweiten Kapitel besprochen.

Im dritten Kapitel werden solche apparative Anordnungen beschrieben, welche eine möglichst effektive Belichtung gestatten, und zwar besonders unter Bedingungen, welche sich theoretisch leicht behandeln lassen.

Hervorgehoben sei noch, daß nur Anordnungen behandelt sind, welche für biochemische Untersuchungen in Betracht kommen können. Bezüglich weiterer photochemischer Methoden sei auf die bekannte Monographie von *J. Plotnikow,* Photochemische Versuchstechnik, Leipzig 1912, verwiesen.

I. KAPITEL.

Die Lichtquellen und ihre Charakteristik.

Wie *Bunsen* und *Roscoe* und seither zahlreiche andere Forscher[1] gefunden haben, sind die chemischen Lichtwirkungen proportional dem Produkt aus Lichtintensität I und Belichtungszeit.

Was den lange bekannten spezifischen Einfluß der Wellenlänge betrifft, so hat *Th. v. Grotthus* vor etwa 100 Jahren das Prinzip aufgestellt, das sich bis jetzt bewährt hat, daß nur das absorbierte Licht vermag, chemische Wirkungen auszulösen.

Erst im Laufe des letzten Jahrzehntes hat sich aber als quantitatives photochemisches Grundgesetz der Satz ergeben: Die photochemisch umgewandelte Stoffmenge ist der vom lichtempfindlichen Stoff absorbierten Energie proportional.

Bekanntlich zeigen die allermeisten, wenn nicht alle Stoffe, ein — im höchsten Grade selektives — Absorptionsvermögen für Strahlen bestimmter Wellenlänge, und so kommt es, daß die meisten Stoffe für Licht gewisser Wellenlänge spezifisch empfindlich sind. Die Frage, ob sich der *Grotthus*sche Satz umkehren läßt, ob also stets eine photochemische Wirkung eintritt, wenn ein chemischer Stoff Licht gewisser Wellenlänge absorbiert, läßt sich noch nicht erschöpfend beantworten: zahlreiche Beispiele sprechen — wirklich oder scheinbar — dagegen.

Wie dem aber auch sei: Aus den obigen Sätzen geht zur Genüge hervor, daß eine Lichtquelle in erster Linie charakterisiert wird durch die Intensität oder Menge des in der Zeiteinheit ausgesandten Lichtes und durch dessen Wellenlänge; oder kürzer ausgedrückt, durch die Energieverteilung seines Spektrums.

Zur Charakteristik der verschiedenen Lichtquellen sind also photometrische Messungen erforderlich, und ehe auf die Konstruktion der für photochemische Versuche in Betracht kommenden Beleuchtungsanordnungen eingegangen wird, soll ein kurzer Überblick auf die wichtigsten photometrischen Methoden geworfen werden.

---

[1]) Vgl. z. B. *Goldberg,* Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 41. S. 1 (1902).

1. Messung der Strahlungsenergie.

Die Intensität chemisch wirksamer Strahlen kann im wesentlichen auf dreierlei Weise gemessen werden:

Erstens man bestimmt die auf eine gewisse Fläche auffallende strahlende Energie, indem man die gesamte Strahlung auf einer schwarzen Fläche auffängt und die Menge der in solcher Weise zugeführten Wärme feststellt. Die Temperaturzunahme bestrahlter schwarzer Körper kann mit dem Thermometer gemessen werden, wie es im Pyrheliometer geschieht. Genauere Resultate erzielt man jedoch mit der Thermosäule oder mit dem Bolometer.

Zweitens man vergleicht die zu messende Lichtintensität mit derjenigen einer Standardlichtquelle, und zwar weißes Licht direkt im Photometer, farbiges Licht im Spektrophotometer.

An dritter Stelle sind die aktinometrischen Methoden zu erwähnen, welche zuweilen die genauesten Messungen gestatten.

* * *

Was zunächst die von der Sonne ausgehende strahlende Energie betrifft, so wird dieselbe durch die Solarkonstante bestimmt. Dieselbe gibt die auf 1 cm^2 während 1 Minute in senkrechter Richtung einfallende Strahlenenergie in *g*-Kal. an.

Dieser auf die obere Grenze der Atmosphäre bezogene Wert wird als exterrestrische, der auf die Erdoberfläche bezogene Wert als terrestrische Solarkonstante bezeichnet.

Die erstere Konstante S_e hat *Abbot* neuerdings zu

$$S_e = 1{\cdot}922\ g\text{-Kal.}\ (15^0)$$

angegeben.

Für die terrestrische Konstante ergibt sich

$$S_t = 1{\cdot}456\ g\text{-Kal.}$$

Diese Resultate liegen auch den Mittelwerten aus den besten früheren Bestimmungen ziemlich nahe.

Auf die Messungsmethoden mit der Thermosäule und dem Bolometer näher einzugehen, würde hier zu weit führen; nur die wichtigsten Apparate sollen zur Orientierung kurz erwähnt werden.

Flächenthermosäulen werden gewöhnlich aus vielen Wismut- und Antimonelementen zusammengesetzt, deren elektromotorische Kraft bei gleichen Temperaturdifferenzen am größten ist. Die Empfindlichkeit der Messung hängt von derjenigen des Galvanometers ab. Störend wirkt die langsame Erwärmung der Elemente und zufällige Temperaturdifferenzen zwischen der Vorder- und Rückseite der Thermobatterie.

Diese Nachteile sind in der linearen Thermosäule von *Rubens*[1] vermieden. Dieselbe besteht aus 20 Eisenkonstantanelementen. Bei Anwendung eines Panzergalvanometers erreicht man eine Empfindlichkeit

[1]) Zeitschr. f. Instrumentenk. Bd. 18. S. 65 (1898).

von 1 *mm* für etwa $^1/_{1000000}$ Grade.[1] Noch größer ist die Empfindlichkeit, wenn sich die Thermoelemente im Vakuum befinden.

Das von *Langley* als Meßinstrument eingeführte Bolometer beruht bekanntlich darauf, daß die Strahlen auf einen dünnen Draht fallen, denselben erwärmen und dadurch seinen Widerstand ändern. Auch das Bolometer kann als Linien- und als Flächenelement angewandt werden. Konstruktionen für die ersteren haben u. a. *Paschen*[2]) und *Edelmann*[3]) angegeben; ein ausgezeichnetes Flächenbolometer rührt von *Lummer* und *Kurlbaum* her.

Schließlich soll nicht unerwähnt bleiben, daß das *Boys*sche Radiomikrometer[4]) ein außerordentlich empfindliches Instrument für Strahlungsmessungen darstellt. Ein sehr leichtes, in sich geschlossenes Thermoelement wird in einem kräftigen Magnetfeld aufgehängt. Wird die Lötstelle bestrahlt, so dreht der entstehende Thermostrom die mit Spiegel versehene Thermosäule. Das Instrument wird von der Firma The Cambridge Scientific Instrument Co. Ltd., Cambridge, in vorzüglicher Ausführung geliefert.

Photometrie.

Als Einheit der Lichtintensität (Leuchtkraft) ist die Hefnerkerze in Deutschland ziemlich allgemein angenommen.

Die von *Hefner-Alteneck* angegebene Lampe[5]) ist eine einfache Dochtlampe von gewissen Dimensionen. Dieselbe wird mit Amylacetat gefüllt. Der Docht besteht aus Baumwollfäden und die Flammenhöhe ist auf 40 *mm* festgelegt. Diese an der Luft leuchtende Flamme strahlt in horizontaler Richtung eine Hefnerkerze, HK, aus.

Ändert sich die Flammenhöhe um 1 *mm*, so variiert damit die Lichtstärke um etwa 3%. Von dem Luftdruck ist die Hefnerkerze wenig abhängig, wohl aber etwas (bis zu 8%) von der Feuchtigkeit. Ist h die Tension des Wasserdampfes bei der Beobachtungstemperatur und p die relative Feuchtigkeit in Prozenten, so gilt folgende Korrektionsformel:

$$J = 1{\cdot}05 - 0{\cdot}000075\ h\,p.$$

Die Einheit der Lichtstärke, J = 1 HK, ist bei einer Luftfeuchtigkeit von 8·8 *l* Wasserdampf auf 1 m^3 trockene Luft von 760 *mm* Druck erhalten worden.

A. Photometrie des weißen Lichtes.

Für photochemische Messungen an weißem Licht dürfte neben der einfachen *Bunsen*schen Anordnung in erster Linie der von *Lummer* und

---

[1]) *H. Rubens* und *E. Aschkinass*, Wied. Ann. Bd. **65**. S. 244 (1898).

[2]) Wied. Ann. Bd. **48**. S. 272 (1893).

[3]) Elektrotechn. Zeitschr. Bd. **15**. S. 81 (1894). — Zu beziehen von der Firma *M. Th. Edelmann* in München.

[4]) Proc. Roy. Soc. Vol. **42**. p. 189 (1887); Phil. Trans. Vol. **180**. p. 159 (1889); siehe ferner *Paschen*, Wied. Ann. Bd. 48. S. 275 (1893).

[5]) Elektrotechn. Zeitschr. Bd. **5**. S. 20 (1884); Zeitschr. f. Instrumentenk. Bd. **10**. S. 119 (1890) und Bd. **13**. S. 257 (1893).

Brodhun[1]) angegebene Apparat in Betracht kommen. Bei derselben wird an Stelle der transparenten Scheibe ein System von zwei Prismen auf denjenigen Punkt der Geraden zwischen der Standardlichtquelle und der zu messenden Lichtquelle eingestellt, an welchem die Helligkeit der beiden Lichtquellen gleich ist. Dieses Photometer ist mehrfach modifiziert worden: *Lummer* und *Brodhuhn* haben die Einstellung verschärft, indem sie die beiden zu gleicher Helligkeit verschmelzenden Felder sich gleichzeitig gegen eine andere erhellte Unterlage sich abheben lassen (Kontrastphotometer). Für zweiäugige Beobachtung hat *H. Krüß*[2]) ein Photometer konstruiert, bei welchem die Einstellungsfehler um 50% verringert sind.

Lichtquellen verschiedener Farben lassen sich mit dem Flimmerphotometer vergleichen. Dasselbe beruht auf dem *Talbot*schen Gesetz, welches sich nach *Helmholtz* folgendermaßen formulieren läßt: „Wenn eine Stelle der Netzhaut von periodisch veränderlichem und regelmäßig in derselben Weise wiederkehrendem Lichte getroffen wird, und die Dauer der Periode hinreichend kurz ist, so entsteht ein kontinuierlicher Eindruck, der dem gleich ist, welcher entstehen würde, wenn das während einer jeden Periode eintreffende Licht gleichmäßig über die ganze Dauer der Periode verteilt würde.“

Das *Talbot*sche Gesetz gilt nun nicht nur für die Wechsel von Hell und Dunkel, sondern auch für denjenigen verschieden gefärbten Lichtes.

Auf diesem Prinzip fußend hat *Krüß* zwei Instrumente konstruiert. Ihre Beschreibung findet man in der Zeitschrift für Instrumentenkunde, Bd. 30.

B. Photometrie im Spektrum.

Die Photometrie spektral zerteilten Lichtes geschieht im wesentlichen nach zwei Prinzipien:

1. Durch den verstellbaren Spalt. Von zwei miteinander zu vergleichenden Lichtquellen entwirft man zwei sich berührende Spektra durch die beiden Hälften eines Spaltes, dessen Breiten einzeln verstellt und gemessen werden können. Sind an einer Stelle die Helligkeiten der Spektra gleich, so verhalten sich die Intensitäten für diese Farbe der Spektren nahe umgekehrt wie die Spaltbreiten.

2. Durch Einschaltung von Polarisatoren.

Wenn linear polarisiertes Licht noch einen Polarisator passieren muß und wenn die Polarisationsrichtungen beider den Winkel φ bilden, so wird der Bruchteil $\cos^2 \varphi$ durchgelassen.

Man polarisiert die beiden zu vergleichenden Lichter senkrecht zueinander, beleuchtet mit ihnen aus gleicher Entfernung die beiden Hälften eines Gesichtsfeldes und beobachtet diese durch einen drehbaren Nikol. Sind φ_1 und $\varphi_2 = 90 - \varphi_1$ die Winkel, welche von der Schwingungsrich-

---

[1]) Zeitschr. f. Instrumentenk. Bd. **9**, S. 23, 41, 461 (1889); Bd. **12**, S. 41 (1892).

[2]) Zeitschr. f. Instrumentenk. Bd **30**, S. 329 (1910).

tung des Nikols mit denen der beiden Lichter eingeschlossen werden, wenn die Hälften gleich hell erscheinen, so ist

$$J_1 : J_2 = \cos^2 \varphi_2 : \cos^2 \varphi_1 = \mathrm{tg}^2 \varphi_1.$$

Die beiden besten Spektralphotometer beruhen auf dem Polarisationsprinzip.

Es kommen gegenwärtig in Betracht derjenige von *G. Hüfner* und ganz besonders der von *König* angegebene, von *Martens* und *Grünbaum* vervollkommnete, nach ihnen benannte ausgezeichnete Apparat.[1] Dieser Apparat ist im ersten Band dieses Werkes (S. 638) von *J. Biehringer* ausführlich beschrieben, so daß hier ein Hinweis genügt. Das Anwendungsgebiet erstreckt sich über das gesamte sichtbare Spektrum.

C. Photometrie im Ultraviolett.

Leider besitzen wir für die ultravioletten Strahlen keine ganz befriedigende spektrophotometrische Meßmethode. Dieser Mangel ist um so empfindlicher, als die Zahl derjenigen Stoffe, welche durch ultraviolettes Licht beeinflußt werden, bedeutend größer ist als die Menge der gegen sichtbares Licht empfindlichen Stoffe.

Auf die Absorption spezieller Stoffe im Ultraviolett werden wir im nächsten Kapitel zurückkommen. Über die Methodik ist folgendes zu sagen:

Als genaue Meßmethode für die Lichtabsorption im Ultraviolett kommt das photographische Verfahren von *Hartley*, beziehungsweise die von *Baly* und *Desch* angewandte Arbeitsweise in Betracht (Ber. d. D. Chem. Ges., Bd. 41, S. 1222, 1908). Man verwendet geeignet verdünnte Lösungen und bestimmt die Intensität der Lichtabsorption durch die Variation der Schichtdicke bei gleicher Belichtungszeit.

Zur Messung der Absorption im Ultraviolett verwendet man als Lichtquelle gewöhnlich den Eisenlichtbogen. Bei der Untersuchung einer Lösung beginnt man mit der größten Konzentration (1 0·1 0·01 normal) je nach der Durchlässigkeit und untersucht bei verschiedenen Schichtdicken.

Man legt zunächst die Platte an die Kassette, bedeckt den Spalt und setzt den Lichtbogen in Gang. Bei vorgesetztem Absorptionsgefäß nimmt man die Schutzplatte vom Spalt, belichtet bestimmte Zeit und bedeckt dann den Spalt wieder. Nachdem das Absorptionsgefäß auf eine andere Schichtdicke eingestellt ist, schiebt man die stets geöffnete Kassette um eine bestimmte Anzahl Teilstriche weiter, belichtet wieder usw. Nach Beendigung obiger Serie, Entwicklung und Fixierung der Platte wird mit den verdünnteren Lösungen begonnen. Man verdünnt hierzu die ursprüngliche Lösung auf das zehnfache und macht eine neue Serie bei ähnlichen Schichtdicken. Gehorcht die Substanz dem *Beer*schen Gesetz, so ist z. B. das Spektrum bei 100 *mm* der 0·1 normalen Lösung mit demjenigen bei 10 *mm* der 1·0 normalen Lösung identisch. Ein wesentliches Erfordernis

[1]) Beschrieben in Ann. d. Physik (4), Bd. 12, S. 984 (1903).

zur Erzielung untereinander vergleichbarer Resultate ist die Gleichmäßigkeit der Lichtquelle. Ändert sich die Lichtintensität des Eisenbogens zwischen mehreren Aufnahmen wesentlich, so kann dieser Umstand die Resultate sehr wesentlich beeinflussen.

Die Ausmessung des Spektrums geschieht durch Vergleich mit einer Standardplatte, bei welcher die Wellenlängen möglichst vieler Linien des Eisenbogens angegeben sind. Man legt die Standardplatte auf die photographische Aufnahme des zu untersuchenden Spektrums, bis die Linien zur Deckung gebracht sind, und liest bei durchscheinendem, möglichst gleichmäßigem Licht ab.

Eine eigentliche Spektralphotometrie im ultravioletten Licht wird durch die Methoden von *Simon* und *Pflüger* ermöglicht.

Während die photographische Methode von *Simon*[1]) zeitraubend und schwer ist, versprechen diejenigen Methoden mehr Erfolg, welche auf der Eigenschaft der ultravioletten Strahlen beruhen, daß die elektrische Ladung eines negativ geladenen Metalls zerstreut wird, wenn dasselbe vom ultravioletten Licht getroffen wird. So haben z. B. *Küch* und *Retschensky*[2]) mit einer Versuchsanordnung, welcher sich die von *Lenard*[3]) angegebenen anschließt, den ultravioletten Teil der Quecksilberquarzlampe bei verschiedener Belastung photometriert. Auf dem gleichen Prinzip beruht die Methode von *Kreusler*[4]) und die Versuchsanordnung von *Ladenburg*.[5])

Eine einfache und wie es scheint auch brauchbare Methode wurde später von *Pflüger*[6]) angegeben. Dieselbe ist herunter bis zu Wellenlängen von 186 $\mu\mu$ anwendbar. In einem Spektrometer, dessen Prismen und Linsen aus Quarz bestehen, ist das Fadenkreuz durch eine lineare Thermosäule nach *Rubens*scher Konstruktion ersetzt. Verwendet man als Lichtquelle den kondensierten Funken zwischen Metallelektroden, welcher eine außerordentliche große Energie besitzt, so sind trotz der Inkonstanz des Induktionsfunkens die Ausschläge der Thermosäule sehr gleichmäßig, was durch die Trägheit desselben zu erklären ist; sie gibt den Mittelwert der in einer bestimmten Zeit — einigen Sekunden — auffallenden Energie an, und dieser Mittelwert erweist sich als sehr konstant.

Nach dem Urteil einer Autorität wie *H. Kayser* ist damit die Aufgabe gelöst, eine einfache, schnelle und sehr genaue Methode — die Fehler bleiben unter 1% — zu ermitteln, um im Gebiete kurzer ultravioletter Wellen zu photometrieren.

Zu erwähnen ist ferner noch eine von *Krüss*[7]) angegebene Methode, die Erregungen der Fluoreszenz durch ultraviolettes Licht zur Spektro-

---

[1]) Wied. Ann. Bd. **59**. S. 91 (1896).
[2]) Ann. d. Phys. Bd. **2**. S. 359 (1900).
[3]) Ann. d. Phys. Bd. **20**. S. 563 (1906).
[4]) Ann. d. Phys. Bd. **6**. S. 398 (1901).
[5]) Ann. d. Phys. Bd. **12**. S. 558 (1903).
[6]) Physik. Zeitschr. Bd. **4**. S. 861 (1903); Ann. d. Phys. Bd. **13**. S. 890 (1904).
[7]) Zeitschr. f. Instrumentenk. Bd. **23**. S. 197, 229 (1903).

photometrie dieser Strahlen zu verwenden. Als fluoreszierender Schirm dient Pauspapier, getränkt mit Chininsulfat. Vor den photographischen Methoden hat dieses Verfahren den Vorzug, daß man, wie bei dem Photometer für sichtbare Strahlen direkt auf gleiche Helligkeit zweier hier fluoreszierender Flächen einstellen kann. Andererseits aber ist die Helligkeit des Fluoreszenzlichtes so gering, daß *Kayser* an der allgemeinen Verwendbarkeit dieser Methode zweifelt.

2. Lichtquellen.

Sonnenlicht.

In erster Linie kommt als biochemische Lichtquelle natürlich das Sonnenlicht in Betracht, insofern als den Biochemiker schließlich nur die Wirkung solcher Strahlen interessiert, welche im Sonnenlicht enthalten sind.

Bezüglich qualitativer Experimente mit Sonnenlicht ist wohl kaum etwas Besonderes zu bemerken und bei den ausgedehntesten dieser Versuche, unter welchen in allererster Reihe diejenigen von *Ciamician* und *Silber*[1]) und weiters diejenigen von *Neuberg*[2]) zu nennen sind, werden die zu beleuchtenden Substanzen in zugeschmolzenen Glasgefäßen dem Sonnenlicht direkt ausgesetzt.

Besonders starke Lichtwirkungen werden natürlich in südlichen Ländern und in besonders reiner Atmosphäre erhalten, also z. B. auf den Höhen von Teneriffa.

Für quantitative Versuche, bei welchen die Lichtmenge konstant zu halten ist, würde man wohl am geeignetsten die zu belichtenden Gefäße in abgegrenzten Räumen oder in Gehäusen aufstellen und die einfallende Menge des Sonnenlichtes durch eine Abblendevorrichtung konstant halten. Lichtfilter, seien es Lösungen, sei es Seidenpapier, dürften sich, wenn der ganze Bereich der Sonnenstrahlen, also auch der ultraviolette Teil, zur Wirkung kommen soll, nicht ohne weiteres eignen. Einwandfrei ist wohl nur die Lichtschwächung durch rotierende Sektorenscheiben, wie sie neuerdings von *Weigert* (Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 80, S. 101 [1912]) angewandt wurde.

Quantitative Untersuchungen einfacher, bekannter biochemischer Reaktionen sind mit reinem Sonnenlicht bisher nur wenig ausgeführt worden. Von botanischer Seite ist die Chlorophyllbildung (*Wiesner*[3]), *Pfeffer*[4]), *Liro*[5]) die Kohlensäureassimilation und die Stickstoffassimilation am meisten studiert worden, besonders hinsichtlich des Spektralbereiches der dabei wirksamen Strahlen. Indessen liegt die Erforschung auch dieser

---

[1]) Rend. d. r. Acc. dei Lincei (1900—1912); Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. **34** (1901) bis Bd. **45** (1912).

[2]) Biochem. Zeitschr. (1908—1912).

[3]) Die Entstehung des Chlorophylls in der Pflanze. Wien 1877.

[4]) Vgl. Lehrbuch, 2. Aufl. 1901.

[5]) Die photochemische Chlorophyllbildung bei den Phanerogamen. Annales Acad. Scient. Fennicae Ser. A. T. **1**. Nr. **1**.

photobiochemischen Vorgänge noch in den ersten Anfängen. Erscheinungen so komplizierter Art, wie die Wirkung des Lichtes auf das Wachstum und die Entwicklung von Pflanzen und Pflanzenorganen gehören mehr in das Bereich der Physiologie als in das hier zu behandelnde Arbeitsgebiet.

Trotzdem darf die Versuchsmethode, welche zur Untersuchung des Lichtgenusses von *J. Wiesner* ausgearbeitet worden ist, hier nicht ganz übergangen werden.[1]) Da für ähnliche Effekte die von *Wiesner* ausgearbeiteten Methoden von großer Bedeutung sind, seien sie hier kurz beschrieben.

Die *Wiesner*sche Methode gründet sich auf die von *Bunsen* und *Roscoe* für lichtklimatische Untersuchungen vorgeschlagene photographische Methode. Dieselbe besteht darin[2]), daß man auf ein in bestimmter Weise bereitetes photographisches Papier (Normalpapier) Licht einwirken läßt, wobei die eintretende Färbung des Papieres unter Berücksichtigung der erforderlichen Zeit mit einem konstanten Farbenton (Normalton) verglichen wird. Die nach dieser Methode erfolgende Intensitätsbestimmung beruht auf dem von *Bunsen* und *Roscoe* festgestellten Gesetze, dem zufolge innerhalb weiter Grenzen gleiche Schwärzungen des Normalpapieres gleichen Produkten aus Beleuchtungsdauer und chemischer Lichtintensität entsprechen. Mit anderen Worten: für gleiche Schwärzungen des Normalpapieres verhalten sich die wirksamen Lichtintensitäten umgekehrt wie die zur Hervorbringung der Normalschwärzung erforderlichen Zeiten.

Die Herstellung des Normalpapieres ist nach *Wiesner* sehr einfach. Für photographische Zwecke geeignetes Papier wird mit einer 3%igen Kochsalzlösung getränkt und an der Luft getrocknet: nach dieser Vorbehandlung läßt man es bei möglichstem Ausschluß chemisch wirksamer Strahlen auf einer 12%igen Lösung von Silbernitrat während 2 Minuten schwimmen.

Die Herstellung der Normalschwärze nach *Wiesner* erfordert größere Sorgfalt. Die Normalschwärze ist ein inniges Gemisch von 1000 Gewichtsteilen chemisch reinen Zinkoxyds mit 1 Teil reinster Rußkohle. Die Normalschwärze, ein graues feines Pulver, wird durch gelöste Gelatine gebunden und als Deckfarbe auf weißem dünnen Karton aufgetragen. Auf diese Weise erhält man den Normalton, den *Wiesner* als Einserton bezeichnet.

Die Lichtintensität, welche auf dem Normalpapier im Verlauf einer Sekunde den Normalton hervorruft, wird nach *Bunsen* und *Roscoe* = 1 gesetzt und dient als Maß aller anderen Lichtintensitäten.

Die *Wiesner*sche Methode zeichnet sich vor der von *Bunsen* und *Roscoe* angegebenen durch viel größere Einfachheit aus. Die Intensitätsbestimmung wird in folgender Weise ausgeführt. Ein Insolator besteht aus einem mit Schlitz versehenen schwarzen Papier, unter welchem Streifen von

[1]) Siehe *Wiesner*, Der Lichtgenuß der Pflanzen. Leipzig (1907).
[2]) Pogg. Ann. S. 117 (1862).

Normaltonpapier und Normalpapier liegen. In den Insolator wird ein Streifen des Normaltones hineingeschoben und daneben mit der nötigen Vorsicht ein Streifen des Normalpapieres, das man so lange bedeckt hält, bis die Bestimmung beginnt. Man bringt den Insolator in die erforderliche Lage, setzt ein Chronoskop (das durch Druck ausgelöst und arretiert werden kann) in Gang, und läßt das Licht so lange einwirken, bis auf dem Normalpapier die Farbe des Normaltones erschienen ist. In diesem Augenblicke arretiert man die Uhr.

Aus der Zeit, welche vom Beginn bis zum Schlusse der Bestimmung verfloß, ermittelt man die Intensität, indem man die Zahl 1 durch die Zahl der zur Färbung erforderlich gewesenen Sekunden dividiert. Waren z. B. 8 Sekunden erforderlich, damit auf dem Normalpapier die Normalfarbe erschien, so ist die Intensität $I = {}^1/_8 = 0{\cdot}125$ *Bunsen*sche Einheiten.

Ein direkter Vergleich zweier Lichtstärken kann ohne Zuhilfenahme des Normaltones in folgender Weise geschehen.

Ein Streifen a des Normalpapieres wird in horizontaler Lage der Einwirkung des gesamten Tageslichtes ausgesetzt, zu gleicher Zeit wird eben so lange ein zweiter Streifen b an dem zu untersuchenden Punkt befestigt. Man erhält auf diese Weise zwei Streifen von ungleicher Färbung. Waren dieselben während gleichen Zeiten dem Licht ausgesetzt, so läßt sich hieraus das Verhältnis der Lichtstärke, welche an dem zu vergleichenden Punkte herrschte, bestimmen. Die beiden Streifen werden nämlich unter Ausschluß wirksamen Lichtes in den Insolator gebracht und ein frischer Streifen des Normalpapieres nebenher eingefügt. Nun stellt man den Insolator im diffusen Tageslichte auf und wartet, bis das frische Normalpapier die Farbe der beiden gefärbten Streifen a und b angenommen hat. Da aber diese beiden Färbungen während der im Licht erfolgenden Bestimmungen sich ändern, so schiebt man nach und nach die unter der schwarzen Hülle des Insolators befindlichen Teile der Streifen ins Licht, bis ein frisch hervorgezogener Abschnitt der Streifen genau die Färbung, welche auf dem frischen Streifen entstanden ist, angenommen hat. Wenn 75 Sekunden verfließen, bis der frische Streifen die Farbe von a, und 25 Sekunden, bis er die Farbe von b angenommen hat, so verhält sich die Stärke des wirksam gewesenen Lichtes an den beiden Stellen wie $75:25 = 3:1$.

War der Streifen a dem gesamten Tageslicht ausgesetzt, der Streifen b an einer zu untersuchenden Pflanze angebracht, so wurde also die Pflanze von einem Drittel des gesamten Tageslichtes getroffen; der relative Lichtgenuß der betreffenden Pflanze ist nach der *Wiesner*schen Ausdrucksweise also $= {}^1/_3$.

Künstliche Lichtquellen.

A. Weißes Licht.

Unter den künstlichen Lichtquellen für weißes Licht kommt zunächst das Nernstlicht und das Auerlicht in Betracht. Ersteres hat sich für zahl-

reiche Beleuchtungszwecke auch bei wissenschaftlichen Messungen sehr brauchbar erwiesen, besonders wegen der gleichmäßigen Energieverteilung im sichtbaren Teil des Spektrums.

Eine wegen der hohen Lichtstärke für photochemische Zwecke besonders geeignete Ausführungsform ist die Projektions-Nernstlampe mit dreifachem Glühkörper (Fig. 103).

Andererseits ist aber die Nernstlampe außerordentlich arm an ultravioletten Strahlen und deshalb nur dann für photochemische Zwecke geeignet, wenn es nicht auf die Wirkung dieser Strahlen ankommt.

Als Quelle für das konzentrierte weiße Licht kommt noch eventuell das Kalklicht bzw. das Zirkonium- oder am besten das Thoriumlicht in

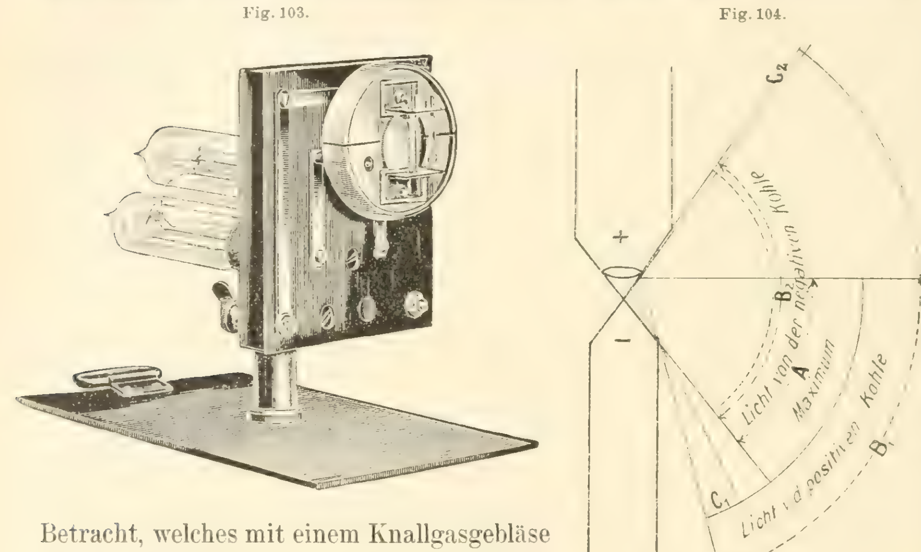


Fig. 103. Fig. 104.

Betracht, welches mit einem Knallgasgebläse oder verdichteten Sauerstoff und Leuchtgas oder Äther erzeugt wird.

Gegenüber der Nernstlampe hat die Kohlenbogenlampe den Nachteil, Licht von ungleichmäßigerer Intensität und ungleichmäßigerer räumlicher Verteilung auszusenden. Andererseits können mit der Bogenlampe bei genügender Stromzufuhr außerordentlich hohe Lichtintensitäten erreicht werden, was sie besonders zur Untersuchung wenig lichtempfindlicher Systeme sehr geeignet macht.

Die erwähnten Vorzüge und Nachteile treten besonders bei der Gleichstrombogenlampe auf. Bei der Wechselstrombogenlampe ist allerdings die Lichtverteilung im Raum gleichmäßiger, andererseits ist aber die Lichtintensität geringer und der Stromverbrauch per Lichteinheit größer. Im allgemeinen wird sie für photochemische Arbeiten weniger geeignet sein als die Gleichstromlampe.

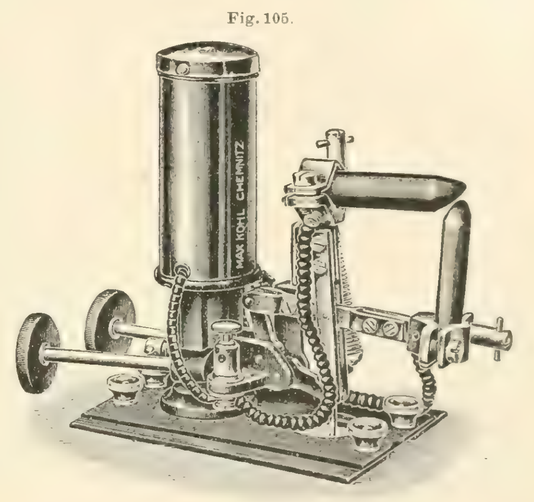
Bekanntlich geht bei der Kohlenbogenlampe das Licht zum größten Teil, nämlich zu 85%, von der positiven Kohle aus (dieselbe kommt zur

Weißglut), nur 10% entstrahlt der negativen Kohle und der Lichtbogen selbst liefert nicht mehr als 5%, obwohl seine Temperatur wenig unter 4000° liegt. Demgemäß machen sich auch äußere Unterschiede bemerkbar. Während des Brennens spitzt sich die negative Elektrode zu, die positive höhlt sich dagegen aus, was auf einem Transport der Substanz von der verdampfenden positiven zur negativen Kohle beruht.

Über die, wie schon erwähnt, sehr ungleiche Lichtverteilung gibt das Schema auf vorhergehender Seite Aufschluß (Fig. 104).

Die Lichtzone zerfällt in 5 Teile: der Teil A ist der lichtstärkste. Er entspricht dem Teil des Kreises, den man sich um den Bogen als Zentrum beschrieben vorstellt. Das Licht der Zonen B_1 und B_2 setzt sich zusammen aus dem des Bogens und des positiven bzw. negativen Kraters. Die Zonen C_1 und C_2 sind die schwächsten, ihr Licht stammt nur aus der positiven bzw. negativen Elektrode.

Fig. 105.



Die Lichtstärke und Lichtverteilung der Bogenlampe ist also in hohem Grad abhängig von dem Winkel des ausgestrahlten Lichtes zu der Axe der Elektroden.

Es dürfte hier zu weit führen, auch nur die Haupttypen der Bogenlampen zu beschreiben; es sei diesbezüglich auf die Spezialwerke verwiesen.

Für kurzdauernde Versuche können Handregulierungslampen zur Anwendung kommen, welche in sehr einfacher Ausführung und zu entsprechend billigem Preis hergestellt werden können. Es empfiehlt sich, im allgemeinen Bogenlampen mit Handregulierung zu quantitativen Versuchen zu verwenden, da solche mit Selbstregulierung oft sehr unregelmäßig brennen. Für länger dauernde Versuche lassen sich die letzteren natürlich nicht vermeiden, in diesen Fällen sei besonders auf den in Fig. 105 abgebildeten Typus der Projektionslampen aufmerksam gemacht.

Wie bei jedem elektrischen Apparat gehört auch bei der Bogenlampe zu jedem Wert der Stromstärke eine gewisse Spannung. Man findet beim Lichtbogen Kurven vom Typus der Fig. 106.

Zur Zündung des Lichtbogens ist zunächst eine hohe Spannung erforderlich. Brennt der Lichtbogen, so sinkt die Spannungsdifferenz zwischen den Kohlen und wird immer kleiner, je mehr die Stromstärke zunimmt.

Mrs. *Ayrton*[1] hat für den Zusammenhang zwischen Widerstand f, Stromstärke A und Bogenlänge L die Formel aufgestellt:

$$f = \frac{h}{A} + \frac{k + mL}{A^2}$$

wo m, h und k Konstanten sind. Demgemäß besteht zwischen der Stromstärke A, der Bogenlänge L und der Elektrodenspannung E die folgende Beziehung:

$$E = Af = h + \frac{k + mL}{A}.$$

Ayrton hat für den Zusammenhang zwischen Elektrodenspannung und Stromstärke bei verschiedenen Bogenlängen folgende Kurven ermittelt, welche sich auf Homogenkohle von 8 *mm* Durchmesser beziehen (Fig. 107).

Fig. 106.

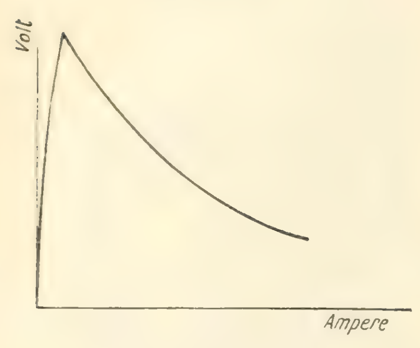
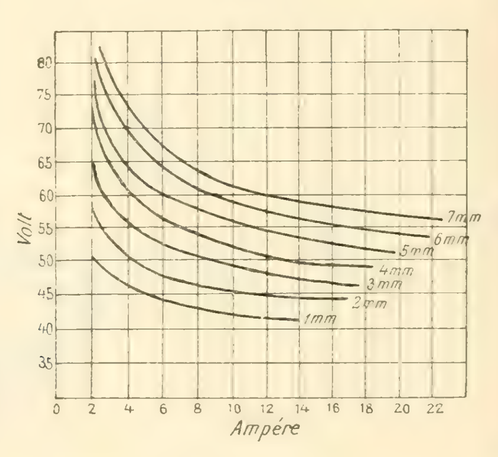


Fig. 107.



Mit abnehmendem Gasdruck sinkt sowohl die Minimalspannung wie das Spannungsgefälle im Lichtbogen. Bei konstanter äußerer elektromotorischer Kraft und konstantem äußeren Widerstand nimmt deshalb die Elektrodenspannung ab und die Stromstärke zu, wenn der Gasdruck wächst.

Die Elektrodenspannung ist ferner vom Elektrodenmaterial abhängig, und zwar in zweierlei Weise. Zunächst ist für verschiedene Metalle der Anoden- und Kathodenfall und dadurch die Minimalspannung verschieden, zweitens wird durch die Ungleichheit im Druck des aus den Elektroden entstehenden Metalldampfes das Spannungsgefälle im Lichtbogen beeinflußt.

Imprägniert man deshalb die positive Kohle mit flüchtigen Metallsalzen, so vermindert sich dadurch die Elektrodenspannung des Lichtbogens.

Der Lichtbogen ist nach neueren Untersuchungen eine Gasentladung, und zwar geschieht die Ionisierung des Gases durch den Strom selbst.

[1]) Proc. Roy. Soc. Bd. 68. p. 410 (1901).

Die Ionenbildung erfolgt in dem vom Strom in Weißglut erhaltenen negativen Krater. Ist die negative Elektrode kalt, so kann sich kein Lichtbogen bilden; dagegen sendet die heiße negative Kohle negative Elektronen zur positiven Kohle. Die negativen Elektronen treffen auf ihrem Wege die Gasmoleküle der Atmosphäre und ionisieren diese Moleküle durch ihren Anprall („Ionenstoß").

Zur Zündung des Lichtbogens ist es also stets erforderlich, daß eine Stelle der Kathodenoberfläche auf so hohe Temperatur gebracht wird, daß eine Aussendung negativer Elektronen stattfindet. Dies kann in zweierlei Weise geschehen:

1. Durch die positiven Ionen eines Glimmstromes.
2. Durch die positiven Ionen unselbständiger Strömungen.

Die Zündung des Kohlenlichtbogens erfolgt in der Regel durch den Glimmstrom. Dabei tritt ein plötzlicher Abfall der Elektrodenspannung ein, da sowohl der Kathodenfall wie das Spannungsgefälle in der positiven Lichtsäule für den Lichtbogen kleiner ist als für den Glimmstrom.

Die zweite Art der Zündung wird vielfach beim Arbeiten mit dem Quecksilberlichtbogen angewendet.

B. Lichtquellen für einzelne Bereiche des sichtbaren Spektrums.

Um einzelne Teile des sichtbaren Spektrums zur Wirksamkeit zu bringen, besteht zunächst die Möglichkeit, weißes Licht spektral durch Prismen zu zerlegen und durch Abblendevorrichtungen Teile des Spektrums zu isolieren. Für photochemische Zwecke ist dieses Verfahren, welches den Vorzug hat, daß das Licht spektrometrisch sich sehr rein erhalten und gut definieren läßt, überall da zur Anwendung gekommen, wo es sich um sehr lichtempfindliche Systeme geringer Ausdehnung handelt, also z. B. von Bromsilberplatten. Auch bei biologischen Versuchen mit Bakterien und anderen Mikroorganismen hat man sich dieser Anordnung bedient. In den meisten, für den Biochemiker in Betracht kommenden Fällen ist jedoch die hierbei zu erreichende Lichtintensität zu gering, und man wird gefärbte leuchtende Dämpfe vorziehen.

Es kommen im wesentlichen zweierlei Lichtquellen in Betracht:

1. Gefärbte Flammen.
2. Lichtbögen zwischen Metallen.

Das Arbeiten mit gefärbten Flammen ist mit bedeutenden Schwierigkeiten verknüpft, insbesondere ist es nicht leicht, dieselben bei genügender Intensität konstant zu halten.

Durch die Bemühungen von *E. Beckmann* und seiner Mitarbeiter[1] ist die Methodik indessen in letzter Zeit sehr vervollkommnet worden.

[1]) *Beckmann* und *Waentig*, Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 68. S. 385 (1909); *Beckmann*, Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 35. S. 340 und 457 (1900); Bd. 40. S. 465 (1902); Bd. 57. S. 641 (1907); Zeitschr. f. Elektrochemie. Bd. 5. S. 327 (1899); Berichte der Deutschen chem. Ges. Bd. 45. S. 2523 (1912). Diese Lampen werden von *F.* [illegible] in Berlin geliefert.

Die betreffenden Anordnungen würden indessen eine detaillierte Beschreibung erforderlich machen, welche hier zu weit führen würde.

Ein Hinweis auf die zitierten Arbeiten muß genügen, um so mehr, als biophotochemische Reaktionen mit gefärbten Flammen bis jetzt nicht studiert worden sind. Andererseits soll es aber nicht unterlassen werden, darauf hinzuweisen, daß Untersuchungen mit Wellenlängen des sichtbaren Spektrums Resultate von sehr großem Interesse versprechen. Allerdings wird man bei derartigen Studien vielleicht das Metallbogenlicht oder die Amalgamlampen der gefärbten Gasflamme vorziehen.

Die Schwierigkeiten, ein sehr konstantes und intensives Licht in einem begrenzten Spektralbereich zu erhalten, sind hier nämlich relativ gering. Ein brauchbarer Lichtbogen läßt sich mit einer ziemlich großen Anzahl von Metallen herstellen, und zwar kann man sich eine Metallbogenlampe mit Handregulierung sehr leicht konstruieren. Als Elektroden empfehlen sich Metallstangen von etwa 5 *mm* Dicke, welche durch Hebelschrauben gegeneinander bewegt werden können. Die Zündung des Metallbogens erfolgt am besten durch Berühren der beiden Elektroden mit der Kante eines (gegen die Hand isolierten) Metallprismas.

Besonders gute Resultate erhält man nach *Kayser* [Handbuch der Spektroskopie. Bd. 1. S. 169 (1900)] mit Eisen. Mit einer Stromstärke, welche der Dicke der Stäbe angepaßt ist, etwa 10—15 Ampere für zylindrische Stäbe von 1—1·5 *cm*, brennt der Bogen ganz ruhig. Am besten wird derselbe mit der Hand reguliert; die automatische Regulierung wird nämlich dadurch unmöglich gemacht, daß die Stäbe bei der Berührung sofort zusammenschmelzen. Ist der Strom zu schwach, so überziehen sich die Stäbe mit einer nicht leitenden Oxydschichte, welche die Wiederherstellung des erloschenen Bogens erschweren.

Außer Eisen hat *Kayser* noch Kupfer ganz brauchbar gefunden, wenn man wesentlich dickere Stangen verwendet. Der Bogen brennt aber jedenfalls viel schlechter als zwischen Kohle. Bessere Resultate erhält man, wenn man mit einem Kohle- und einem Metallstabe arbeitet.

Um leichter schmelzbare Metalle wie Aluminium, Silber, Zink, Cadmium u. a. im Lichtbogen verdampfen zu können, bohrt man die positive Kohleelektrode aus und füllt die Bohrung mit dem betreffenden Metall, sei es in Stab-, sei es in Pulverform. Als negative Elektrode verwendet man Kohle.

Die Füllung der ausgebohrten Anodenkohlen kann auch mit Salzen oder Oxyden geschehen.

In mehreren Fällen führt die Imprägnierung der Kohle mit Metallsalzen, z. B. mit Eisensalzen, zu ausgezeichneten Resultaten.

Als Quelle für besondere Liniengruppen sind schließlich noch die Amalgamdampflampen zu nennen.

Die sogenannten „Amalgamlampen“, welche von *Heraeus* zuerst angefertigt wurden, sind ganz wie die Quecksilberdampflampen der gleichen Firma konstruiert (siehe S. 605 u. ff.) und unterscheiden sich von diesen nur

dadurch, daß sie statt reinen Quecksilbers Amalgame verschiedener Metalle wie Zink, Cadmium, Thallium oder mehrere Metalle gleichzeitig enthalten.

Diese Lampen, besonders diejenigen mit gemischten Amalgamen, zeichnen sich durch einen großen Reichtum an Linien aus und entsenden ein außerordentlich intensives sichtbares Licht, so daß sie sich zu Untersuchungen mit einfarbigem sichtbaren Licht in hohem Grade eignen. Gleichzeitig bilden sie eine der intensivsten konstanten Quellen für ultraviolettes Licht.

C. Quellen für ultraviolette Strahlen.

Im großen und ganzen nimmt der chemische Einfluß des Lichtes mit abnehmender Wellenlänge stark zu, und so sind, wie schon in der Einleitung hervorgehoben, die ultravioletten Strahlen chemisch in hohem Grade wirksam. Auch innerhalb des genannten Spektralbereiches sind es wiederum diejenigen der kürzesten Wellenlänge, welche die mannigfachste Wirkung ausüben, aber schon die ultravioletten Strahlen des Sonnenlichtes, welche von der Atmosphäre nicht absorbiert werden und also die Erdoberfläche treffen, die Strahlen der Wellenlänge 400—300 $\mu\mu$, spielen für die Biochemie zweifellos eine sehr bedeutende Rolle. Das Studium der im ultravioletten Licht verlaufenden biochemischen Reaktionen ist in letzter Zeit begonnen worden und es ist zu hoffen, daß es in verschiedener Richtung fortgesetzt wird.

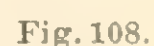
Dadurch scheint es gerechtfertigt, daß der Verfasser die Methodik der Erzeugung ultravioletten Lichtes ziemlich eingehend bearbeitet hat. In der Medizin findet ja das ultraviolette Licht in neuerer Zeit reichliche Anwendung zur Behandlung von Hautkrankheiten. Wie hier gelegentlich noch erwähnt sein mag, haben in neuester Zeit auch die kürzesten ultravioletten Strahlen, welche uns von der Sonne her nicht treffen, eine biologische Bedeutung durch den Befund erlangt, daß ihnen eine hervorragend starke bakterizide Wirkung zukommt. Es hat wirklich, wie gelegentlich betont wurde, den Anschein, als ob Mikroorganismen sich an die natürlich vorkommenden Strahlen angepaßt hätten, während sie der Einwirkung der noch kürzeren Wellenlängen sofort erliegen *(Henri)*.

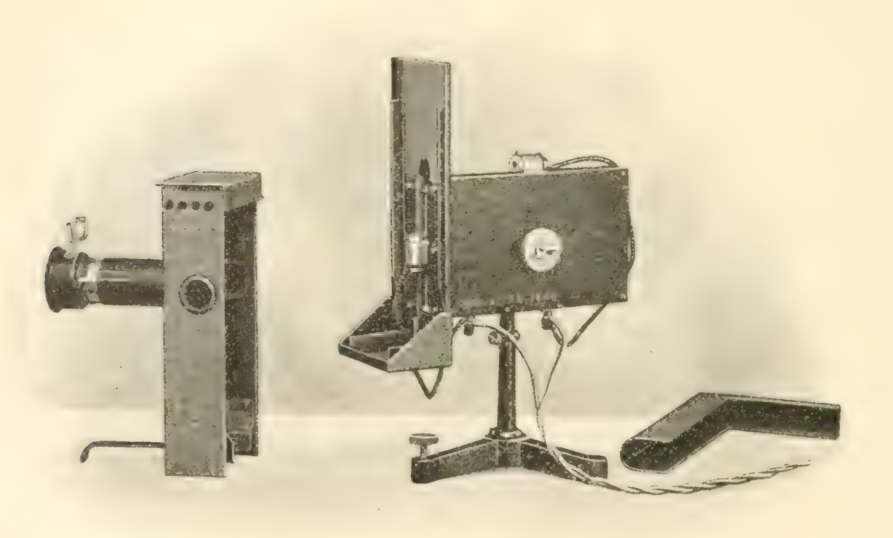
Es darf nicht unterlassen werden, hier auf die schädliche Wirkung aufmerksam zu machen, welche ultraviolette Strahlen auf die Epidermis, ganz besonders aber auf die Augen ausüben.

Bei längeren Arbeiten mit Quecksilberdampflampen hat sich der Experimentator entweder dadurch zu schützen, daß er zwischen sich und die Lampe eine dicke Glasscheibe stellt, oder wenn ein Arbeiten dicht an der Lampe nicht zu vermeiden ist, die Hände durch Handschuhe, die Augen durch dunkle Brillen und eventuell das Gesicht durch eine Maske schützt. Auch ein kurzes Arbeiten an der brennenden Quecksilberlampe mit ungeschützten Augen hat schon nach wenigen Minuten eine unter Umständen schwere Augenentzündung zur Folge.

Die UV-Filterlampe von *Zeiss*.

Als Lichtquelle für ultraviolette Strahlen würde die Bogenlampe, besonders wenn sie mit größerer Stromstärke von etwa 30 Amp. benutzt wird, oft sehr geeignet sein, wenn sie nicht gleichzeitig eine so starke Wärmestrahlung aussenden würde, daß das zu beleuchtende System nicht ohne weiteres in größere Nähe vom Lichtbogen gebracht werden kann. Eine neue, ganz außerordentlich geeignete und starke Quelle für ultraviolettes Licht erhält man bei Benutzung der von Gebr. *Siemens & Co.* hergestellten Eisenlichtkohlen. Es sind das Kohlen, deren Docht mit Eisensalzen imprägniert ist. Dieselben sind besonders geeignet für das UV-Filter, da das Spektrum des Eisenbogens in dem von dem Filter durchgelassenen Spektralgebiet eine große Menge sehr starker Liniengruppen aufweist. Man


Fig. 108.



hat also bei Benutzung dieser Eisenlichtkohlen einen doppelten Vorteil: die Wärmewirkung ist wesentlich geringer, dagegen die Energie im Ultraviolett bedeutend höher.

Die UV-Filterlampe (Fig. 108) besteht in der Hauptsache aus einer kleinen Eisenlichtlampe mit Handregulierung. Diese Lampe kann entweder mittelst Reiters auf eine optische Bank gesetzt werden, oder wird auf einem neigbaren Dreifuß befestigt. Die Kohlen der Lampe brennen senkrecht zueinander und können durch Lösen der an einem Rendelknopf befindlichen Flügelschraube unabhängig voneinander verstellt werden.[1])

[1]) Wie *H. Lehmann* bemerkt, schleudern die Eisenlichtkohlen namentlich beim Beginn des Anbrennens glühende Eisenteilchen nach allen Seiten, so daß dadurch selbst Quarzlinsen, welche in der Nähe des Bogens stehen, beschädigt werden. Es ist daher

Das lichtdichte Gehäuse ist abnehmbar. An ihm sitzt ein ausziehbarer Tubus mit zwei Quarzkollektorlinsen von 40 *mm* Öffnung und eine Spezialfassung für die UV-Filter von 40 *mm* Durchmesser, welche sowohl die einfache als auch die Doppelküvette einzusetzen gestattet. Die Eisenlichtkohlen können durch keine anderen ersetzt werden, da gewöhnliche Kohlen zu starke Erwärmung geben und auch nicht so starkes ultraviolettes Licht ausstrahlen. Die Lampe kann mit 3 bis höchstens 10, längere Zeit nur mit 5 Ampere gebrannt und somit an jede Lichtleitung, die entsprechend gesichert ist, angeschlossen werden.

Durch zwei sehr dunkle, in den Seiten des Gehäuses angebrachte Rauchglasscheiben kann der Brand der Kohlen kontrolliert werden. Aus den oben erwähnten Gründen ist es zweckmäßig, frische Kohlen erst ein bis zwei Minuten bei abgenommenem Gehäuse abbrennen zu lassen. Die Länge des Bogens soll etwa 10 *mm* betragen. Als positive Kohle ist die horizontale Kohle zu wählen, andernfalls entwickelt die Lampe nicht ihre volle Lichtenergie und die negative Kohle würde zu rasch abbrennen.

Wird die Lampe mit mehr als 5 Ampere gebrannt, so ist eine Kühlvorrichtung erforderlich. Dieselbe besteht darin, daß die Kupfersulfatlösung des UV-Filters aus einer hochgestellten Vorratsflasche durch das Filter in ein untergestelltes Becherglas läuft.

Quecksilberdampflampen.

1. Quarzlampen.

Für Arbeiten, in welchen die äußersten ultravioletten Strahlen zur Wirkung kommen sollen, ist die von *Heraeus* in Hanau konstruierte Quecksilberbogenlampe zu verwenden. Die Abbildung Seite 606 zeigt die montierte Lampe. Man unterscheidet das Leuchtrohr *L*, das Anodengefäß *A* und das Kathodengefäß *K;* die Stromzuführung geschieht durch die in schräger Richtung am linken und rechten Ende aufwärts führenden Rohransätze, in welche ein Konus aus Nickelstahl eingeschliffen ist. Die Dichtung ist durch Quecksilber und aufgeschmolzenen Kitt hergestellt (Fig. 109).

Da die Wärmeentwicklung an der Anode und Kathode verschieden ist, haben die beiden Pole verschiedene Form und Größe erhalten, und zwar so, daß die Wärmeabgabe nach außen etwa im Verhältnis der entwickelten Wärme steht, und daß an der Anode nicht wesentlich größere Verdampfung stattfindet als an der Kathode: es bleibt somit während der Brenndauer die Quecksilbermenge in beiden Schenkeln annähernd konstant.

Die Lampe ist in einem Stativ befestigt, in welchem sie bei horizontaler Ruhelage eine geringe Neigung nach dem positiven Pol hin besitzt, so daß nach dem Kippen einerseits das negative Polgefäß bis in die zylin-

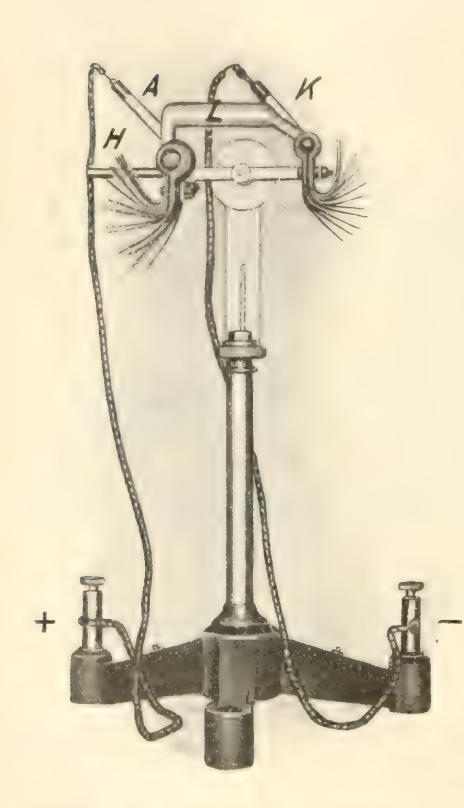
---

anzuraten, frische Kohlen erst einige Minuten brennen zu lassen, ehe man empfindliche Gegenstände in die Nähe des Bogens bringt.

drische Verjüngung hinein mit Quecksilber gefüllt wird, und andererseits der Überschuß an Quecksilber zum positiven Pol zurückfließt. Vor der Zündung soll das negative Polgefäß vollkommen, d. h. bis in die zylindrische Verjüngung hinein mit Quecksilber gefüllt sein.

Die Lampe zeigt bei einer Netzspannung von 170—220 Volt eine Elektrodenspannung von etwa 25 Volt. Um die Lampe innerhalb der angegebenen Spannungsgrenzen brennen lassen zu können, muß ein regulierbarer Vorschaltewiderstand von 95—100 Ohm in die Leitung eingeschaltet werden, welche eine Belastung von 2—2·5 Amp. dauernd und vorübergehende Belastung bis zu 4—5 Amp. verträgt. Beim Zünden der Lampe schaltet man ca. 50 Ohm Widerstand vor. Die Zündung der Lampe erfolgt in der Weise, daß man den Hebel *H* vertikal stellt und noch um etwa 45° weiter dreht. Dadurch fließt ein zusammenhängender Faden vom positiven Pol zum negativen. Beim Zerreißen dieses Fadens entsteht der Lichtbogen und man bringt dann die Lampe in die horizontale Lage zurück. Die Elektrodenspannung ist alsdann 25 Volt, die Stromstärke 5 bis 6 Amp. Überläßt man nun die Lampe sich selbst, so steigt durch die allmähliche Erwärmung des Quecksilbers und die Steigerung des Dampfdruckes die Spannung auf etwa 60 Volt, während die Stromstärke auf etwa 2 Amp. sinkt.

Fig. 109.



Die Lampe kann auch in vertikaler Lage brennend Verwendung finden.

Da die elektrische Charakteristik[1]) der Lampe eine Funktion der aus den Elektroden entwickelten Dampfmenge ist, so hängt dieselbe unter sonst gleichen Umständen von der Temperatur der Elektroden ab. Je vollständiger die Elektroden gekühlt werden, um so größer ist die Stromstärke der Lampe. Bei den von *Heraeus* gelieferten gebräuchlichsten Modellen geschieht die Kühlung durch Metallbänder, welche eine ziemlich gute Luftkühlung ermöglichen. Dieselbe kann durch einen gegen die Pole gerichteten, passend verteilten Luftstrom noch verstärkt werden.

[1]) Vgl. *Küch* und *Retschinsky*, Ann. d. Physik. Bd. **20**. S. 563 (1906).

Bei Lampen, welche mit größeren Energiemengen gespeist werden, reicht die Luftkühlung nicht aus und muß durch eine Wasserkühlung ersetzt werden, was sich bei der Widerstandsfähigkeit des Quarzes gegen Temperaturschwankungen ziemlich leicht bewerkstelligen läßt.

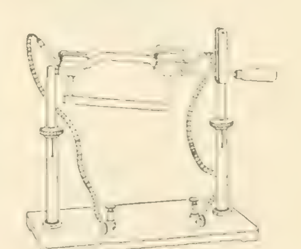
Täglich soll das Quarzrohr der Lampe vor der Entzündung mit einem mit Alkohol benetzten Tuch gereinigt werden. Anderenfalls verkohlen die auf das Rohr gelangten organischen Substanzen (Staub, Fett) und vermindern, und zwar sehr beträchtlich, die Durchsichtigkeit des Quarzes. Indessen auch bei peinlich eingehaltener Reinlichkeit kommt es vor, daß die Wirksamkeit der Quarzlampe mit der Zeit abnimmt.

Eine derartige Erfahrung hat der Verfasser bei seinen Untersuchungen über die Zersetzung der Glukose und der Oxysäuren selbst gemacht. Die in der Biochem. Zeitschr. Bd. 39. S. 410 (1912) angegebenen Zahlen haben sich $^3/_4$ Jahre später nicht mehr mit der gleichen Lampe, wohl aber mit einer neuen von *Heraeus* gelieferten Lampe reproduzieren lassen. Über ähnliche Erscheinungen berichten auch andere Forscher.

Das Auslöschen der Lampe geschieht durch Ausschalten des Stromes. Will man die erloschene Lampe von neuem zünden, so lasse man dem Rohr 1—2 Minuten Zeit zur Abkühlung. Vor erneuter Zündung muß der Vorschaltwiderstand genügend zurückgeschaltet werden.

Von Quecksilberdampflampen anderer Montierung sei zunächst eine von *Plotnikow* angegebene, von *F. Köhler* in den Handel gebrachte Form erwähnt, welche aus nebenstehender Figur ohne weiteres ersichtlich ist (Fig. 110).

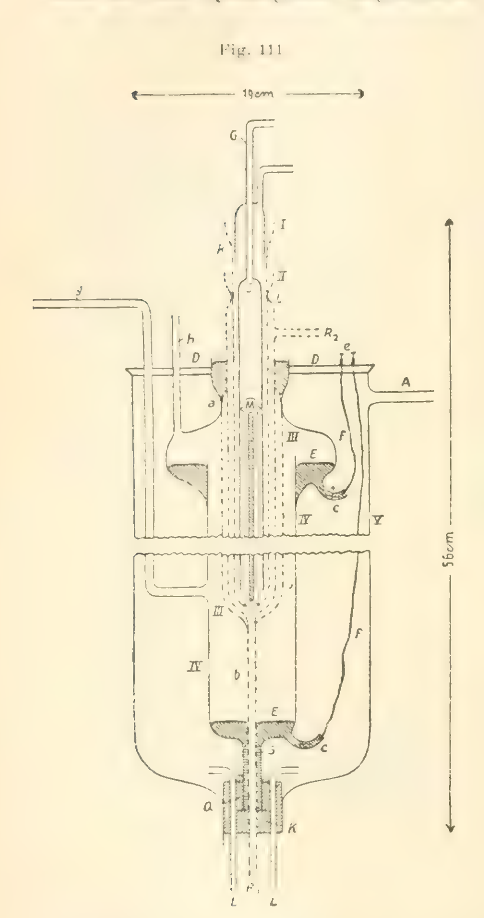
Fig. 110.



An dieser Stelle mag darauf hingewiesen werden, daß die Zündung der Quecksilberlampen allgemein in zweierlei Weise geschehen kann. Die zum Zustandekommen eines Lichtbogens erforderliche hohe Temperatur der Kathode wird erreicht entweder dadurch, daß (wie bei der *Heraeus*schen Lampe und bei der *Schott*schen Uviollampe) der zwischen Anode und Kathode übergehende Quecksilberfaden zerreißt, oder dadurch, daß an die Kathode der negative Pol einer Hochspannungsquelle, beispielsweise einer Induktionsrolle, gelegt wird. Der positive Pol befindet sich entweder außerhalb der Lichtbogenröhre oder ist mit einer dritten in das Vakuum tauchenden Elektrode verbunden. Die hohe Spannung ist nur erforderlich, bis ein Glimmstrom entsteht, welcher dann durch Erhöhung der Stromstärke in einen Lichtbogen übergeht, welcher durch viel niedrigere Spannung gespeist werden kann. Diese wird durch die normale Stromquelle geliefert und die höhere Spannung kann dann abgeschaltet werden. Letzteres Zündungsprinzip kommt z. B. bei der gleich zu beschreibenden Lampe von *Cohn* zur Anwendung.

Zur Belichtung bei beliebig niederer Temperatur ist die von *Coehn* konstruierte Quarzlampe[1]) (Fig. 111) besonders geeignet und daher für biochemische Arbeiten sehr empfehlenswert. Die Lampe besteht aus dem Glasgefäß *IV*, in welches das doppelwandige Gefäß *II III* aus Quarzglas eingesetzt ist. Die Verbindung mit *IV* bewirkt am oberen Ende der Quecksilberschliff *a*. Am unteren Ende ist der etwa 1 *mm* weite Raum zwischen dem an das Quarzgefäß angesetzten Rohr *b* und dem Ansatz des Glasgefäßes *IV* mit Siegellack *S* gedichtet. Ferner befinden sich am unteren Ende des Gefäßes, sowie auf der unteren Seite der kugelförmigen Erweiterungen je drei Ansätze *c* (es ist nur eine gezeichnet) von der aus der Figur ersichtlichen Form, mit durchgeschmolzenen Platindrähten, um die Stromzuführung zu bewirken. Die Dreiteilung der Zuführung erlaubt, bis zu Stromstärken von 10 Amp. zu gehen, ohne daß die Einschmelzstelle der Platindrähte springt.

Fig. 111



Die Lampe ist in das Kühlgefäß *V* mittelst des Korkens *K* eingesetzt; das Quarzrohr *b* ist durch eine Durchbohrung des Korkens hindurchgeführt. Durch zwei andere Durchbohrungen führen gebogene Glasröhren *L*, die zur Zuleitung des Kühlwassers dienen. Um an der Kittstelle noch eine möglichst gute Dichtung zu erzielen, wurde der Kork zur Hälfte ausgehöhlt; der entstandene Hohlraum, dessen Boden und Wände mit Marineleim ausgekleidet sind, werden mit Quecksilber *Q* gefüllt. Obenauf kommt noch eine Decke von Marineleim. Diese Einrichtung dient außer zur besseren Dichtung auch noch zur Kühlung der Kittstelle, wenn bei höherer Temperatur gearbeitet wird. Am oberen Ende wird die Lampe durch den aus zwei getrennten Hälften bestehenden Hartgummideckel *D* gehalten, der zugleich zwei Klemmschrauben *e* für die Stromzuführung trägt. Diese Klemmen sind durch biegsame Drähte *F* mit dem außen in den Ansätzen *c* befindlichen Quecksilber und durch die eingeschmolzenen Platindrähte mit den Quecksilberelektroden *E* der Lampe

[1]) *Coehn* und *Becker*, Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. **70**. S. 90 (1910).

verbunden. Die Zuführungsdrähte sind durch Gummischläuche isoliert, die über das Ende von *c* geschoben sind. Dicht unter dem oberen Rand des Gefäßes *V* befindet sich eine Abflußöffnung *A* für das Kühlwasser.

Der Lampenraum wird durch das Rohr *g*, das an eine Quecksilberluftpumpe angeschmolzen war, evakuiert. Die Füllung der Lampe mit Quecksilber geschieht nach vollständiger Zusammensetzung durch das Rohr *h*, das nach dem Füllen zugeschmolzen wurde.

Der Anodenraum ist im Verhältnis zum Kathodenraum sehr groß gewählt, um durch eine möglichst große Kühlfläche die Destillation des Quecksilbers nach unten in den Kathodenraum zu verhindern. Die Lampe blieb dauernd mit der Luftpumpe verbunden und wurde so weit evakuiert, bis bei weiterem Pumpen die Klemmenspannung nicht mehr sank. Wenn die Lampe ordnungsmäßig funktionierte, betrug die Klemmenspannung etwa 25 Volt.

In das Quarzgefäß *II* kann das unten geschlossene Quarzrohr *I*, das den eigentlichen Reaktionsraum bildet, mittelst des Schliffes *i* eingesetzt werden.

Der Lichtbogen geht von einem Punkt der Kathode, dem Krater, der sich in fortwährender aber unregelmäßiger Bewegung auf die Kathode befindet, nach der Anode. Um ein Rotieren des Kraters um die Lampenachse und völlig gleichmäßige Verbreitung des Lichtbogens durch das Lampeninnere zu erreichen, wird in der Mitte der Lampe ein in ein Glasrohr eingeschlossener Stahlmagnet *M* angebracht.

Die Temperatur im Innern des Reaktionsraumes beträgt ohne Kühlung 100—160°. Soll bei Zimmertemperatur gearbeitet werden, so läßt man durch den Raum zwischen *I* und *II* Wasser von Zimmertemperatur strömen, das bei R_1 ein- und bei R_2 austritt.

Die Zündung der Lampe geschieht, nachdem die Klemmen mit der Stromquelle verbunden sind, mit Hilfe eines Induktoriums. Der eine Pol der sekundären Wicklung ist direkt mit der Kathode verbunden, von dem zweiten Pol ist ein Draht in das Rohr *b* eingeführt, der dort (außerhalb des Lampenraumes) endet. Zum Zünden ist natürlich eine größere elektromotorische Kraft notwendig, als zum dauernden Betrieb, und zwar 220 Volt. Für den Betrieb war eine Batterie von 72 Volt mit einem regulierbaren Vorschaltewiderstand von 10 Ohm ausreichend.

Chapman, *Chadwick* und *Ramsbottom*[1]) haben bei ihren Untersuchungen über den Einfluß des ultravioletten Lichtes auf die Spaltung und Assimilation der Kohlensäure folgenden Apparat angewandt:

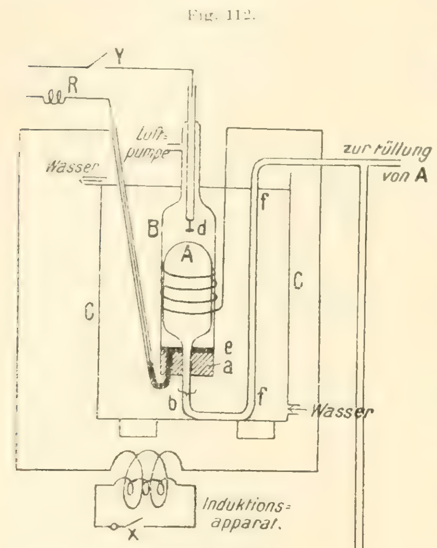
Die zu belichtenden Gase werden in einem Kolben von geschmolzenem Quarz eingeschlossen, durch welches das ultraviolette Licht von außen her eindrang. Bei der hohen Absorptionsfähigkeit der meisten Substanzen für ultraviolette Strahlen muß dafür gesorgt werden, daß die wirksamen Strahlen nur das Vakuum oder geschmolzenen Quarz zu durchdringen haben

[1]) Journ. Chem. Soc. Vol. **91**. I. p. 942 (1907).

Zuerst wurde versucht, das Quarzgefäß mit Strahlen eines Quecksilberbogens zu beleuchten, welche sich im selben evakuierten Raum wie das Quarzgefäß, aber in kurzem Abstand befand. Diese Anordnung erwies sich indessen als unwirksam, was zweifellos darauf beruhte, daß die chemisch wirksamen Strahlen durch eine den Lichtbogen umgebende Schicht von nicht leuchtendem Quecksilberdampf absorbiert werden. Deswegen wurde schließlich der Quarzkolben in den Quecksilberbogen gestellt, während man gleichzeitig dafür sorgte, daß die darin befindlichen Gase sich höchstens um einige Grade erwärmten. Die definitive Anordnung geht aus folgender Skizze hervor.

Die dem ultravioletten Licht ausgesetzten Gase befanden sich in dem zylindrischen Quarzgefäß A. Dasselbe war eingeschlossen in einer Quecksilberlampe aus Glas B, deren Kathode aus Quecksilber e bestand, während die Anode durch einen kurzen Eisenzylinder d gebildet wurde. Sobald der Strom zwischen e und d passierte, war das Quarzgefäß vollständig von dem Lichtbogen umgeben und die Strahlen hatten nur das 1·5 *mm* dicke Quarzglas zu durchdringen. Der Abstand zwischen der inneren Oberfläche der Quecksilberlampe und der äußeren Oberfläche des Quarzgefäßes betrug 2 *mm*. Die Quecksilberlampe wurde mit einer Sprengelpumpe evakuiert. Die Herstellung des Kontaktes zwischen den Elektroden läßt sich aus der Figur entnehmen.

Fig. 112.



Der Hals des Glasgefäßes A geht durch den Stopfen a, welcher den unteren Teil der Quecksilberlampe verschließt, und stand durch Quecksilberverschluß b in Verbindung mit dem Rohr f. Die Quecksilberlampe befand sich in einem Bad C, welches von einem kontinuierlichen starken Strom kalten Wassers durchflossen wurde.

Da es wünschenswert war, daß die Temperatur des Quarzgefäßes nicht mehr als einige Grade stieg, ließ man den elektrischen Strom nur eine Sekunde lang durch die Quecksilberlampe passieren und ließ die Lampe dann jedesmal sich eine halbe Minute lang abkühlen. Man konnte annehmen, daß bei den in dieser Weise ausgeführten Versuchen kein Teil des Gases eine höhere Temperatur als 40° annahm. Die Zündungsanordnungen sind im Original nachzusehen.

In der Fig. 112 bezeichnen R den Widerstand, mit welchem der Betriebsstrom von etwa 6 Amp. reguliert wird; Y einen Quecksilberunter-

brecher: X ist der Unterbrecher des Primärstromes des Induktionsapparates, welcher den Zündungsstrom liefert.

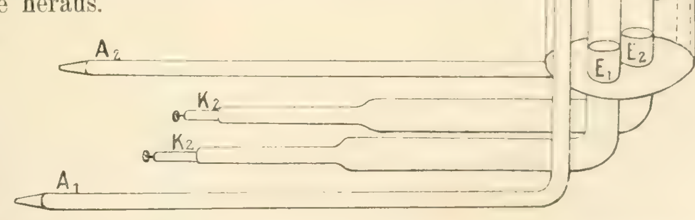
Bei der *Cochn*schen Lampe müssen die ultravioletten Strahlen eine Wasserschicht durchdringen, wodurch die Strahlen kürzester Wellenlangen absorbiert werden. Bei der Lampe von *Chapman*, wo die Zündung automatisch nach jeder halben Minute erfolgt, ist die Lichtintensität nicht konstant, wodurch quantitative Messungen erschwert werden. Bei der von *Fischer* angegebenen Konstruktion stellt sich ein erhebliches Temperaturgefälle ein, was die quantitative Verwertung der Resultate erschwert.

Die erwähnten Nachteile hat *Weigert* in einer Konstruktion zu vermeiden versucht, welche für quantitative photochemische Untersuchungen im äußersten Ultraviolett besonders geeignet zu sein scheint.

Lampe von *Weigert* für quantitative Messungen im äußersten Ultraviolett.

Das Brennerrohr nimmt nur einen möglichst kleinen Raum ein, wie dies auch bei der von *Kromeyer* ausgebildeten Anordnung für lichttherapeutische Zwecke der Fall ist; es ist aus Quarz in Gestalt eines umgekehrten ∩ gebogen und von einem Quarzmantel eng umschlossen. Dieser wird von außen durch Wasser gekühlt. Um im äußersten Ultraviolett, das von Quarzglas noch durchgelassen wird, chemische Lichtwirkungen studieren zu können, wurde der Quarzmantel, welcher das eigentliche Brennerrohr umhüllt, nach oben verlängert und mit einer Quarzplatte bedeckt. Nur die so entstandene Zylinderoberfläche, nicht aber die Verschlußplatte aus Quarz wurde mit Wasser gekühlt. Das Licht tritt demnach nicht in horizontaler Richtung, sondern von unten nach oben aus der Lampe heraus.

Fig. 113.



Der eigentliche Quarzkörper ist in Figur 113 schematisch dargestellt. Er besteht aus einem Brennerrohr B, in welchem der Lichtbogen zwischen den Quecksilberoberflächen E_1 und E_2 übergeht. Die Stromzuführung geschieht in derselben Weise wie bei der Quarzlampe nach *Kromeyer* von den Klemmschrauben K_1 und K_2 aus. Der Quarzmantel M ist zylindrisch und, was wesentlich ist, oben möglichst eben verblasen. Durch zwei Quarzkapillaren A_1 und A_2 kann der Gasinhalt des Mantelraumes beliebig verändert und z. B. mit Stickstoff, welcher ultraviolett sehr wenig absorbiert, gefüllt werden.

Die Zündung der Lampe geschieht durch Kippen. Sie steht in einem Gehäuse, welches den verschiedenen Verwendungsmöglichkeiten der Lampe

Rechnung trägt. Die Konstruktion dieses Gehäuses[1]) ist in der Originalabhandlung von *Weigert* zu finden.

Das Bestrahlungsgefäß, welches von unten vom Licht getroffen wird, besteht aus einem weiten Glasrohr, das unten durch eine eingeschliffene Quarzplatte verschlossen ist.

Bei den von *Weigert* ausgeführten Untersuchungen konnte in dem Glasrohr ein aus schwarzem Glas geblasener hohler Kolben in Richtung des Rohres auf und ab bewegt werden. Er verhinderte die Bestrahlung der über ihn liegenden Gasschicht bis auf einen ganz dünnen ringförmigen Raum. Dadurch konnte die Länge der bestrahlten Schicht beliebig variiert werden.

Charakteristik der Quecksilber-Quarzlampe.

E. Ladenburg[2]) hat die Energieverteilung der Quecksilberlampe aus Quarzglas mit der linearen Thermosäule von *Rubens* bestimmt.

Die Lampe brannte an 110 Volt angeschlossen nach etwa 10 Minuten konstant mit 2 Ampere bei einer Klemmenspannung von etwa 85 Volt. Es wurde festgestellt, daß sowohl die Gesamtenergie wie auch die Energie der einzelnen Spektrallinien, soweit sie untersucht wurden, proportional mit dem Wattverbrauch zunimmt.

Die intensivste der gemessenen Linien ist die hellgrüne von der Wellenlänge 546·1 $\mu\mu$.

Die relativen Energieverhältnisse der verschiedenen Teile des Spektrums lassen sich nach *Plotnikow* aus dem Verhältnis der Energieflächengrößen der gegebenen Energiekurve ermitteln.

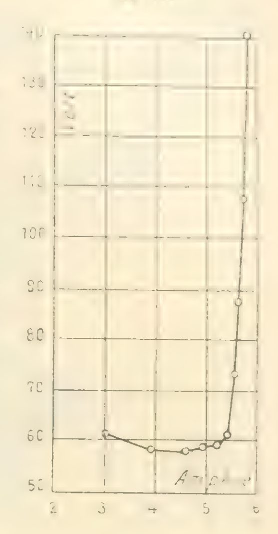
Gebiet der			Wellenlängen der Hauptlinien in $\mu\mu$ in der Gruppe	Energiegröße abgerundet
gelben	Strahlen	I	579·0 576·9 567·9	13
hellgrünen	„	II	546·1	19
blaugrünen	„		491·6	0·5
blauen	„	III	435·9 434·8 433·9	5
violetten	„	IV	407·8 404·7	2·5
ultravioletten	„	V	366·3 365·4 365·0	9
„	„	VI	313·1 312·3	6
„	„	VII	253·6	1

[1]) Physik. Zeitschr. Bd. 5. S. 525 (1904).

[2]) Dieser Apparat wird von der Quarzlampengesellschaft m. b. H. geliefert.

Zeichnet man diese Kurve auf Millimeterpapier und berechnet die Zahl der Quadrate, die in jeder Fläche eingeschlossen sind, so ergibt sich die Flächengröße in relativem Maße für jeden Spektralbezirk. Man kann den Vergleich in der Weise ausführen, daß man die auf homogenem Papier gezeichnete Kurve ausschneidet und auf einer feinen Wage zur Wägung bringt. In der vorstehenden Tabelle sind die nach ersterer Methode erhaltenen Resultate wiedergegeben.

Fig. 114.



Dieser Tabelle zufolge würde die Energie des ultravioletten Teiles, welcher hier allerdings nicht vollständig gemessen ist, geringer sein als diejenige des sichtbaren Spektrums. Berücksichtigt man auch den hier nicht gemessenen ultravioletten Teil, so kommt man zum Resultat, daß die Energie der beiden Teile ungefähr gleich ist.

Am Schluß dieses Abschnittes möchte der Verfasser nochmals hervorheben, daß die Quecksilber-Quarzlampe auch für bio-photochemische Zwecke eine ganz ausgezeichnete Lichtquelle darstellt, welche sich — wenn es sich um quantitative Messungen handelt — kaum durch eine andere ersetzen läßt.

Für den Quecksilberlichtbogen im Vakuum bei ungefähr 2 *mm* Dampfdruck hat *Recklinghausen* obige Kurve angegeben. Man sieht, wie zuerst die Elektrodenspannung mit wachsender Stromstärke abnimmt. In diesem Teil der Kurve ist der Dampfdruck nämlich nahezu konstant. Bei weiter steigender Stromstärke steigt hingegen der Dampfdruck und damit das Spannungsgefälle von der positiven Lichtsäule und gleichzeitig auch die Elektrodenspannung (Fig. 114).

2. Uviollampen von *Schott & Gen.*

Seit dem Jahre 1903 stellt die Firma *Schott* und Gen. in Jena Quecksilberbogenlampen aus Uviolglas her, welches für ultraviolette Strahlen bedeutend durchlässiger ist als gewöhnliches Glas. Während nämlich gewöhnliches Glas nur für Strahlen bis etwa 350 $\mu\mu$ durchlässig ist, dringen durch das Uviolglas (Baryumphosphat-Chromglas) noch Strahlen bis etwa 250 $\mu\mu$. Der Preis dieser Quecksilberlampen ist niedriger (für 30 *cm* leuchtende Länge 20 Mark; für 90 *cm* leuchtende Länge 30 Mark) als derjenige der Quarzlampen, weshalb sich die sogenannten Uviollampen sowohl in wissenschaftlichen Laboratorien wie in der chemischen Technik bereits eingebürgert haben. Die Hauptformen der von *Schott & Gen.* mit Stativ und allem Zubehör (Vorschaltwiderstand, Induktionsrolle) gelieferten Lampen geht aus Fig. 115 *a* und *b* hervor. Die Länge der Lampenröhre

wechselt zwischen 50 und 90 *cm*, ihr Durchmesser beträgt etwa 2·5 *cm*. Die Lampen werden für eine Netzspannung von 100—250 Volt geliefert und verbrauchen etwa 3 Ampere. Die Kuppelung der Lampe geht aus folgendem Schema hervor (Fig. 116). In den Stromkreis wird ein Vorschaltwiderstand *W* eingeschaltet, welcher mit einer Induktionsspule von etwa 40 Ohm versehen ist, welche etwaige Stromschwankungen schwächt. Bei konstanter Netzspannung sendet die Lampe während vieler Stunden ein konstantes Licht aus.

Fig. 115 *a*.

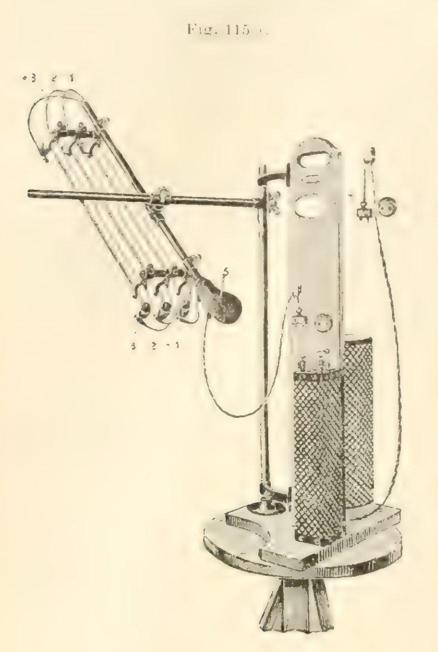
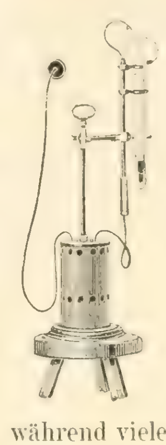
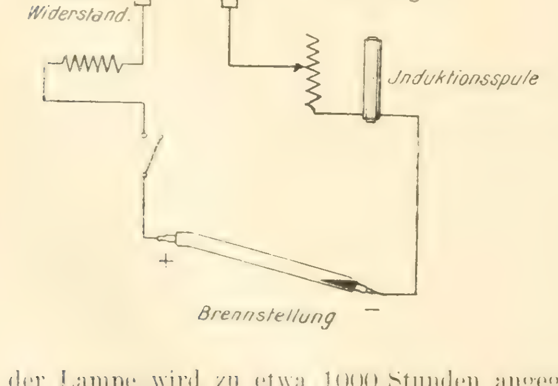


Fig. 115 *b*.



Die Lampe wird gezündet, indem man sie so weit neigt, bis sich alles Quecksilber auf dem positiven Pol angesammelt hat, und dann umkippt, bis das Quecksilber zum negativen Pol zurückfließt. Der dabei entstehende zusammenhängende Quecksilberfaden zerreißt und bewirkt das Entstehen eines Lichtbogens. Die untere, negative Elektrode muß, wenn die Lampe brennt, immer von Quecksilber bedeckt sein, während der positive, aus Kohle bestehende Pol frei liegt.

Fig. 116.



Die Zimmertemperatur darf nicht zu niedrig sein, sonst bedeckt sich das Lampenrohr mit einem feinen Quecksilberbeschlag, welcher die Lichtintensität beeinflußt. Die Brenndauer der Lampe wird zu etwa 1000 Stunden angegeben. Mit der Zeit soll sich die Lichtintensität im Gegensatz zu der Quarzlampe nur wenig ändern.

so daß bei längeren Untersuchungen quantitativ reproduzierbare Resultate erhalten werden.

Die Uviollampe ist reich an ultravioletten Strahlen.

Besonders hervorzuheben sind im ultravioletten Teil die Linien:

366, 334, 313, 303, 297, 289, 280, 265, 253 μμ

Im sichtbaren Teil sind die stärksten Linien:

613, 579, 546, 436, 408, 405.

Die Intensität des sichtbaren und des unsichtbaren Teiles sind ungefähr gleich groß.

Plotnikow[1]) hat gezeigt, daß die Uviollampe in der oberen Hälfte ein mit der Länge konstantes Licht aussendet.

Bei manchen quantitativen Untersuchungen wird man nur mit einem abgegrenzten Lichtbündel arbeiten wollen und wird das Licht deshalb abblenden. Diesbezügliche Vorrichtungen hat *Plotnikow* konstruiert (vgl. S. 627). Sie werden von *F. Köhler* in den Handel gebracht.

3. Andere Lichtquellen.

Eine Quelle für ultraviolettes Licht, welche vielleicht in einigen Fällen geeignete Verwendung finden kann, ist nach den Beobachtungen von *Konen* der unter Wasser überspringende Aluminiumfunke. Von *Grebe*[2]) und *Mies*[3]) wird folgende Anordnung angegeben. Zwei dicke zugespitzte Aluminiumdrähte befinden sich in einem mit Quarzfenster versehenen Gefäß, in welchem das Wasser zwecks Entfernen des zerstäubten Metalles kontinuierlich erneuert wird. Der Strom wird von einem Induktor von ca. 30 *cm* Schlagweite geliefert.

*Geissler*sche Röhren, welche bei spektrophotometrischen Messungen im Ultraviolett verwendet werden, haben für photochemische und besonders biophotochemische Zwecke keine Anwendung gefunden und sind hierfür wohl im allgemeinen auch nicht geeignet.

II. KAPITEL.

Experimentelles über Absorption und Lichtfilter.

Es ist eine feststehende Tatsache, daß nur Strahlen von solcher Wellenlänge oder Schwingungsform, welche von einem Stoff absorbiert werden, chemisch wirksam sein können.

Über die Umkehrbarkeit dieses wichtigen Satzes ist man sich noch nicht ganz klar. Das vorliegende Beobachtungsmaterial weist keineswegs eindeutig darauf hin, daß alle absorbierten Wellenlängen auch chemisch wirksam sind. Sollte dies der Fall sein, dann liegen in zahlreichen Fällen jedenfalls sehr schwache Wirkungen vor und man kann sicher so viel

---

[1]) Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 58. S. 214 (1907).

[2]) Zeitschr. f. wiss. Photographie. Bd. 3. S. 376 (1904).

[3]) Zeitschr. f. wiss. Photographie. Bd. 7. S. 357 (1907).

mit Bestimmtheit sagen, daß keinerlei Proportionalität zwischen der Größe der Absorption und dem chemischen Effekt besteht.

Schramm hat in grundlegenden Untersuchungen gezeigt, daß bei der Photobromierung nur diejenigen Strahlen wirksam sind, die von Brom absorbiert werden. Er hat aber ferner dargetan, daß die Hauptwirkung von den gelben und grünen Strahlen ausgeübt wird, während die stärkste Absorption des Broms im Grünblau und Blau liegt. Man sieht, daß das Wirkungsmaximum nicht mit dem Absorptionsmaximum zusammenfällt — eine auf den ersten Blick sehr überraschende Tatsache.

Eines der auffallendsten Beispiele für die Nicht-Umkehrbarkeit des *Grotthus*schen Satzes bildet die *Fehling*sche Lösung. Diese Flüssigkeit ist schwach lichtempfindlich, wobei sich Cu_2O ausscheidet, während die Weinsäure oxydiert wird. Nach *Byk* [Zeitschr. f. physikal. Chem., Bd. 49, S. 681 (1904)] ist aber die *Fehling*sche Lösung nicht für die im Orange absorbierten Strahlen empfindlich, sondern nur für ultraviolett, in dessen Bereich gleichfalls ein Absorptionsband existiert.

Das dem Biochemiker nächst liegende Beispiel ist die Photoassimilation der Kohlensäure durch die chlorophyllhaltigen Pflanzen. Die Absorption des Chlorophylls liegt im Rot und Gelb (erstes Maximum nach *Willstätter* zwischen B und C, zweites Maximum zwischen F und G), die Assimilation erfolgt im gelben und roten Licht. Dagegen ist das Assimilationsmaximum im Gelb, das Absorptionsmaximum im Rot. Ganz ähnliches gilt für die von *Luther* studierte Oxydation des Chininsulfates durch Chromsäure, deren Maximum in dem von Chininsulfat absorbierten und nicht in dem von Chromsäure absorbierten Licht ist.

Der Umstand, daß jede Lichtreaktion eine Funktion der absorbierten Lichtmenge ist, beeinflußt einerseits den Verlauf dieser Vorgänge in charakteristischer Weise, andererseits muß er bei der Wahl der Versuchsanordnungen in erster Linie berücksichtigt werden, sobald es sich um quantitative absolute oder auch nur um vergleichende Messungen handelt.

Indem das wirksame Licht absorbiert wird, nimmt seine Intensität von Schicht zu Schicht ab und demgemäß wird auch die Reaktionsgeschwindigkeit von Schicht zu Schicht geringer.

Es ist dies die Hauptursache der Abweichung der Dynamik der photochemischen Umwandlungen von derjenigen der „Dunkelreaktion".

Theoretisch kann hier auf diese Angelegenheit nicht näher eingegangen werden, praktisch ergibt sich zunächst die Konsequenz, daß die lichtempfindliche Substanz, das Photosubstrat, den Strahlen in möglichst großer und dünner Schicht auszusetzen ist, wenn es sich um die Erreichung maximaler Wirkungen handelt. Dieser Forderung trägt man Rechnung, indem man die zu belichtenden Lösungen in Küvetten von geeigneten Dimensionen füllt oder in Flaschen, deren planparallele Vorder- und Rückwand nur geringen Abstand voneinander haben[1]; wir werden hierauf noch zurückkommen.

[1]) *Euler* und *Lindberg*, Biochem. Zeitschrift, Bd. 39, S. 410 (1912).

Für die apparative Anordnung der Lichtversuche kommt in Betracht:

1. Daß die wirksamen Strahlen auf ihrem Weg zum Photosubstrat keine sie absorbierenden Substanzen treffen.

2. Daß andererseits diejenigen Strahlen, welche das Substrat nicht treffen sollen, durch Lichtfilter ausgeschaltet werden, und

3. Daß das Substrat zur größtmöglichsten und eventuell zu konstanter und berechenbarer Absorption befähigt wird.

Bezüglich des ersten Punktes ist daran zu erinnern, daß beim Arbeiten mit ultravioletten Strahlen anstelle von Glas für Prismen, Linsen, Filter usw. Quarz oder eventuell Uviolglas verwendet werden muß. Die meisten Gläser absorbieren bereits Strahlen von 400 $\mu\mu$ an. Crowngläser sind im allgemeinen durchlässiger als Flintgläser.

Die Beziehung zwischen Schichtdicke und der Lichtintensität J wird bekanntlich durch das Gesetz von *Lambert* geregelt:

$$Jx = Je^{-kx}$$

K wird als Absorptionskonstante des durchstrahlten Körpers bezeichnet.

Ultraviolette Strahlen, welche durch die Luft absorbiert werden, kommen für biochemische Versuche nicht in Betracht.

Durchlässigkeit für ultraviolette Strahlen.

Seit es bekannt geworden ist, welchen Einfluß ultraviolette Strahlen auf chemische Reaktionen ausüben, hat man mehr als früher die Absorption verschiedener Stoffe im unsichtbaren Teile des Spektrums untersucht. Die gründlichsten Arbeiten in dieser Hinsicht verdankt man *W. N. Hartley*. Aus seinen Arbeiten ging hervor, daß viele Stoffe im Ultraviolett teils kontinuierliche, teils selektive Absorption zeigen. *Hartley* teilt die im Ultraviolett absorbierenden Stoffe in drei Klassen ein.

1. Stoffe, die am ultravioletten Ende absorbieren, aber durch Verdünnung mit indifferenten Lösungsmitteln leicht durchlässiger gemacht werden können (aliphatische Kohlenwasserstoffe: Eintritt von OH, COOH, OCH_3, NH_2 ändert nicht den Charakter des Spektrums, sondern nur das Absorptionsvermögen).

2. Stoffe, die ähnlich wie die vorhergenannten, aber stärker absorbieren, und zwar so, daß Verdünnung geringen Einfluß hat. Hierhin gehören Verbindungen mit geschlossener Kohlenstoffkette, wie Terpene.

3. Stoffe, die bei großem Absorptionsvermögen deutliche Absorptionsstreifen hervorrufen, wie Benzol, Naphthalin, Pyridin usw.

* *

Luft ist bis 194 $\mu\mu$ durchlässig; bei 186 $\mu\mu$ ist die Absorption schon sehr groß und bei 165 $\mu\mu$ vollständig.

Wasser sowie die niederen Alkohole sind für kurzwellige Strahlen in hohem Grade durchlässig, so daß diese Stoffe als Lösungsmittel im

andere im Ultraviolett absorbierende benutzt werden können. Es ist bis 193 $\mu\mu$ gut durchlässig; bei 186 $\mu\mu$ schon weniger als Quarz.

Glas. Strahlen unter 300 $\mu\mu$ werden von allen Gläsern so gut wie vollständig absorbiert, abgesehen vom

Uviolglas, welches Strahlen bis 253 $\mu\mu$ durchläßt.

Eine 1 *cm* dicke Quarzplatte läßt Strahlen von 186 $\mu\mu$ noch zu etwa $^2/_3$ durch.

Noch geringer ist die Absorption bei Fluorit, welcher bei 186 $\mu\mu$ in 1 *cm* dicker Schicht erst 17% der Strahlen zurückhält.

Glimmer zeigt schon eine nicht unerhebliche Absorption im Ultraviolett. Er läßt in 0·05 *mm* dicker Schicht Strahlen von 400—280 $\mu\mu$ passieren.

Viscose und Zelluloseazetat lassen Strahlen bis 253 bzw. 270 $\mu\mu$ durchgehen.[1])

Organische Flüssigkeiten. Qualitative Untersuchungen sind bereits in großer Zahl von *Hartley*, *Batz*, *Desch*, *Hantzsch*, *Ley* u. a. ausgeführt worden.[2]) Quantitative Untersuchungen an Äthylalkohol und Glyzerin verdankt man *A. Pflüger*[3]) und an zahlreichen anderen Alkoholen sowie an Säuren, Äthern, Estern, Aldehyden usw. *V. Henri* und Mitarbeitern. Die Zahlen müssen in den Originalarbeiten nachgesehen werden. Im allgemeinen nimmt in jeder Substanzgruppe die Absorption mit der Molekulargröße zu. Die Karboxylgruppe verursacht eine sehr bedeutende Absorption. Die Aldehyde sind charakterisiert durch eine Bande bei 280 $\mu\mu$ und eine starke Absorption im innersten Ultraviolett; die Ketone zeigen dagegen eine Bande bei 268 $\mu\mu$ und schwache Absorption im äußersten Ultraviolett.[4]) Für den Biochemiker sind diese Ergebnisse auch insofern von Interesse, als sie über die Brauchbarkeit dieser Substanzen als Lösungsmittel bei Absorptionsmessungen Aufschluß geben.

So sind z. B. Alkohol und Äthyläther als Lösungsmittel für Chlorophyll verwendet worden. Eine neuere Untersuchung von *Dhéré* und *de Rogowski*[5]), welche auch mit *Willstätters* kristallisiertem Chlorophyll aus Galeopsis ausgeführt wurde, hat das bemerkenswerte Resultat ergeben, daß dieses Chlorophyll nur ein einziges Absorptionsband im Ultraviolett bei etwa 304 $\mu\mu$ als Schwerpunkt besitzt.

Herr und Frau *Henri* haben auch die Absorption des Hühnereiweißes untersucht[6]) und gefunden, daß die abiotische Wirkung der Strahlen mit dem Absorptionskoeffizienten des Eiweißes (Protoplasmas) parallel geht.

[1]) *Cernovodeanu* und *Henri*, Compt. rend. T. **150**. p. 549 (1910).

[2]) Gegen die biologische Methode von *G. Vallet*, Compt. rend. T. **150**. p. 295 (1910), welcher die Durchlässigkeit verschiedener Medien durch die bakterizide Wirkung der Strahlen in diesen Medien bestimmt, lassen sich sehr starke Einwürfe machen.

[3]) Physikal. Zeitschr. Bd. **10**. S. 406 (1909).

[4]) *Bielecki* und *Henri*, Compt. rend. T. **155**. p. 456 (1912).

[5]) Compt. rend. T. 155. p. 653 (1912).

[6]) Compt. rend. T. 155. p. 315 (1912).

Lichtfilter.

Filter für sichtbares Licht.

Zu Arbeiten mit sichtbaren Strahlen bestimmter Wellenlänge (farbigem Licht) verwendet man häufig eine „weiße" Lichtquelle in Verbindung mit Filtern. Auch bei Benutzung solcher Lampen, welche farbiges Licht aussenden, filtriert man dasselbe zur erforderlichen Reinigung. *Landolt*[1]) hat die zur Herstellung geeigneter Lichtfilter erforderlichen Salze angegeben und die Durchlässigkeit dieser Filter in einer Tabelle zusammengestellt, welche hier wiedergegeben sei:

Farbe, *Fraunhofer*sche Linie	Dicke der Schicht in *mm*	Wässerige Lösung von	Substanz in 100 cm^3 Lösung *g*	Optischer Schwerpunkt in *μμ*	Spektralbereich des durchgehenden Lichtes
Rot (C = 656·3)	20 20	Kristallviolett 5 BO . . . . . Kaliummonochromat	0·005 10	665·9	718—639
Gelb (D = 589·3)	20 15 15	Nickelsulfat $NiSO_4 + 7H_2O$. Kaliummonochromat . . . . Kaliumpermanganat	30 10 0·025	591·9	614—574
Grün (E = 527·0)	20 20	Kupferchlorid $CuCl_2 + 2H_2O$ . . Kaliummonochromat	60 10	533·0(?)	540—505
Hellblau (F = 486·1)	20 20	Doppelgrün SF . . . . Kupfersulfat $CuSO_4 + 5H_2O$ . .	0·02 15	488·5	526—458
Dunkelblau (G = 430·8)	20 20	Kristallviolett 5 BO . . . . . . Kupfersulfat $CuSO_4 + 5H_2O$ . .	0·005 15	448·2	478—410

Von ultravioletten Strahlen soll weißes Licht befreit werden durch (nicht glukosidartige) Cumarinderivate, welche mit einfachen bathochromen Gruppen substituiert sind, wie Umbelliferon, Aeskulatin.[2])

Ultraviolettdurchlässige Filter.

Vor kurzer Zeit hat die Firma *Zeiss* ein Filter aus Uviolglas in den Handel gebracht, welches nur ultraviolettes Licht aus dem Spektralgebiet von 300—400 *μμ* durchläßt, und zwar sind die durchgelassenen Strahlen von großer Reinheit, d. h. nicht mit Strahlen anderer Wellenlängen gemischt, und bei Verwendung geeigneter Lichtquellen, z. B. des Eisenlichtes, von großer Intensität. Zunächst eignet sich dieses UV-Filter besonders zu Untersuchungen über Photoluminiszenz, welche sich auch an lebenden und toten Geweben zeigt und also auch an das Gebiet der Biochemie grenzt. Direkt interessiert hier das UV-Filter als Hilfsmittel für biochemische Arbeiten, welche eine Bestrahlung mit reinem ultravioletten Licht fordern.

[1]) Das optische Drehungsvermögen. 2. Aufl. S. 388—390 (1898).

[2]) *Kopp* und *Joseph*, D. R.-P. Kl. 57 b. Nr. 253, 334.

Ultraviolettdurchlässige Filter sind von *R. Straube*, *K. Schwarzschild* und *W. Villiger*[1], von *Wood*[2] und *Goldhammer*[3] vorgeschlagen worden. Ersterer Forscher wendet ein aus UV-Glas hergestelltes Objektiv an, an dem zwei Flächen versilbert sind; es wird ein enger Wellenlängenbereich bei etwa 322 $\mu\mu$ durchgelassen. *Woods* Filter läßt Strahlen von 400 bis 340 $\mu\mu$ durch. Es ist zusammengesetzt aus einer Schicht Nitrosodimethylanilin, welche bei geeigneter Konzentration eine gute Durchlässigkeit von 400—280 $\mu\mu$ besitzt, das blau und violett aber gut absorbiert, und aus blauem Kobaltglas, welches die roten und grünen Strahlen aufhält, aber auch einen großen Teil der ultravioletten Strahlen, welche der Nitrosokörper noch durchläßt. Als dritten Teil wendet *Wood* grünes Signalglas an.

Das UV-Filter des *Zeiss*-Werkes behält das Nitrosodimethylanilin bei. Um das Durchlässigkeitsgebiet des Körpers möglichst auszunutzen, verwendete *H. Lehmann* das von *Zschimmer* in Jena erfundene blaue Uviolglas, welches für Ultraviolett eine wesentlich höhere Durchlässigkeit besitzt als die vorher genannten Gläser. In folgender Tabelle ist die Durchlässigkeit der drei blauen Gläser für 1 *mm* Glasdicke angegeben:

Wellenlänge in $\mu\mu$	644	578	546	509	480	436	405	366	334	313/12	302	281
Jenaer Blauviolettglas	0	0·01	0·01	0·16	0·47	0·74	0·72	0·43	0·03	0·01	—	—
Gewöhnliches Kobaltglas	-	0·02	0·09	0·17	0·42	0·74	0·81	0·66	0·29	0·075	—	—
Jenaer Blauuviolglas	0	0·01	0·03	0·03	0·11	0·66	0·92	0·96	0·93	0·83	0·69	0·19

Das blaue Uviolglas wird für das UV-Filter in so große Dicke (etwa 4 *mm*) verwandt, daß die Durchlässigkeit für Grün außerordentlich klein ist. Um bei der Durchlässigkeit des blauen Uviolglases für Rot diese Strahlen wegzunehmen, wird eine 20%ige wässerige Kupfersulfatlösung von 5 *mm* Dicke angewandt; dieselbe zeigt für Ultraviolett noch eine ganz gute Durchlässigkeit. Eine Form der Filterkombination wird vom *Zeiss*-Werk in Jena in der Weise ausgeführt, daß eine Küvette mit Wänden aus Blauuviolglas hergestellt wird, welche durch einen Glasring getrennt sind, in dem sich die Öffnungen zum Füllen und Entleeren des Filters befinden. Diese Kammer wird mit der Kupfersulfatlösung gefüllt. Der gelbe Nitrosokörper wird in einer festen Gelatineschicht auf eine dritte Blauuviolglasscheibe präpariert, welche mit der Schichtseite am Rand auf eine Außenseite der Küvettenwand gekittet wird. Die zweite Ausführungsform stellt eine Doppelküvette dar, also drei Blauuviolglasscheiben, durch zwei Glasringe zusammengehalten.

[1]) Physikal. Zeitschr. Bd. 6. S. 737 (1905).

[2]) Phil. Mag. Bd. 6. S. 259 (1903).

[3]) Physikal. Zeitschr. Bd. 4. S. 413 (1903). *Goldhammer* schlägt Kobaltsulfat + Nickelsulfat + *Hoffmanns* Violett vor.

In der einen Kammer wird dann die Kupfersulfatlösung gefüllt und in die andere eine verdünnte wässerige Lösung von Nitrosodimethylanilin. Die Farbstoffdichte (vgl. *v. Hübl*, Die photographischen Lichtfilter. Halle 1910) des Nitrosokörpers beträgt etwa 0·5 g/m^2.

Die Haltbarkeit dieses Filters ist allerdings nicht unbegrenzt, denn nach längerer intensiver Beleuchtung scheiden sich an der Innenfläche der Filterküvette kleine Schüppchen ab, wodurch die Fläche mattiert wird. Auch die mit Nitrosokörper gefärbte Gelatineschicht wird nach einiger Zeit ausgebleicht. Es ist deshalb von Zeit zu Zeit ein Aufpolieren der Blauviolglaswände und eine Erneuerung der gefärbten Gelatineschicht erforderlich, was indessen leicht geschehen kann.

Die Gesamtdurchlässigkeit der beschriebenen Filterkombination liegt in dem Intervall von 400—300 $\mu\mu$ und das Maximum etwa bei 350 $\mu\mu$.

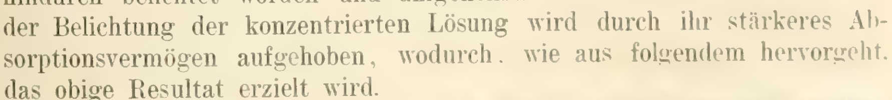
Das UV-Filter wird in 5 Größen von 20—100 *mm* lichtem Durchmesser hergestellt.

Anwendung von Lichtfiltern zur experimentellen Bestimmung einer Korrektion bei dynamischen Messungen.

Die Absorption der im Licht reagierenden Stoffe verursacht eine kontinuierliche Abnahme der Lichtintensität innerhalb der belichteten Lösungen und dadurch erhebliche Abweichungen vom einfachen Reaktionsverlauf. Man muß daher, um die richtige Reaktionsordnung zu bestimmen, eine große Korrektion anbringen. Diese Korrektion läßt sich nach *Slator* und *Luther* durch Lichtfilter folgendermaßen experimentell bestimmen.[1])

Fig. 117.

Zwei flache Gefäße werden aus Glasplatten hergestellt, in welchen die photochemische Reaktion vor sich geht. Wenn die Gefäße, welche die zwei Lösungen von verschiedenen Konzentrationen halten, wie in Fig. 117 zusammengestellt sind, und von beiden Seiten gleich belichtet werden, so läßt sich beweisen, daß die Lichtstärke in beiden Lösungen annähernd gleich sein muß. Die konzentrierte Lösung ist teilweise durch die verdünnte Lösung hindurch belichtet worden und umgekehrt. Die Stärke der Belichtung der konzentrierten Lösung wird durch ihr stärkeres Absorptionsvermögen aufgehoben, wodurch, wie aus folgendem hervorgeht, das obige Resultat erzielt wird.



Wenn Lichtstrahlen durch eine absorbierende Lösung hindurchgehen, ist die Abnahme der Lichtstärke gegeben durch die Gleichung

$$I_x = I_0 \alpha^x,$$

wo I_0 = Intensität des einfallenden Lichtes,

I_x = Intensität nach Durchwanderung der Schicht x,

α = eine Funktion der absorbierenden Lösung.

---

[1]) *Slator*, Zeitschr. f. physikal. Chemie. Bd. **45**. S. 513 (1903).

Vorausgesetzt, daß das *Beer*sche Verdünnungsgesetz gilt, ist $\alpha = m^c$, wo m den Durchlässigkeitskoeffizienten des gelösten Stoffes bezeichnet und c die Konzentration desselben.

Es ist also

$$I_x = I_0 \, . \, m^{cx}.$$

Die mittlere Lichtstärke in der Schicht (Fig. 118) OAPB $= \frac{\text{Fläche OAPB}}{x}$

oder proportional der Fläche, wenn die Schichtdicke konstant ist:

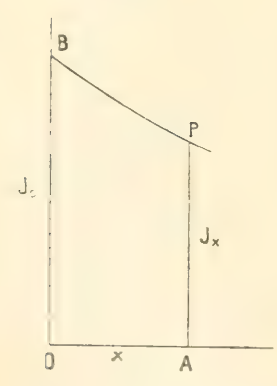
$$\text{Fläche OAPB} = \int_0^x J_x \, . \, dx = \int_0^x J_0 \, . \, m^{cx} \, dx$$

$$= J_0 \left[\frac{m^{cx}}{c \ln m} \right]_0^x = J_0 \, . \, \frac{m^{cx} - 1}{c \ln m}.$$

Aus diesem Ansatz kann man die Lichtstärke in den beiden Lösungen berechnen.

Als Resultat ergab sich: Obgleich die Absorption sehr bedeutend ist, ist der Unterschied zwischen den mittleren Lichtstärken klein. Die Fehler F, ferner Absorption in den Glasplatten OA usw. haben einen erniedrigenden Einfluß auf die Ordnung der Reaktion, welche in dieser Weise gemessen wird, aber die Resultate zeigen, daß dieser Einfluß klein ist.

Fig. 118.



Die Methode hat den großen Vorteil, daß sie gestattet, einen beliebigen Teil der Reaktion, nicht bloß die Anfangsgeschwindigkeit zu beobachten und daß sie deshalb viel sicherere Resultate ergibt.

Die Gefäße wurden aus Glasplatten von demselben Stück Glas geschnitten und mit Gelatine verkittet. Unregelmäßigkeiten werden durch Vertauschen der Gefäße eliminiert. Durch Schützung der schmalen Seiten durch lange schwarze Papierstreifen werden alle Strahlen, welche nicht unter einen kleinen Winkel einfallen, abgeblendet, und es kommen demnach nur die fast parallelen Strahlen in Betracht, wodurch erzielt wird, daß Strahlen, welche in eine Schicht hineingehen, auch die anderen durchwandern müssen.

Die Gefäße stehen auf einem Tisch, welcher gedreht werden kann, und während der Versuchsdauer werden sie ungefähr 20mal um 180° gedreht. Auf diese Weise ist es *Slator* gelungen, von beiden Seiten annähernd gleiche Lichtmengen in die Lösungen zu schicken.

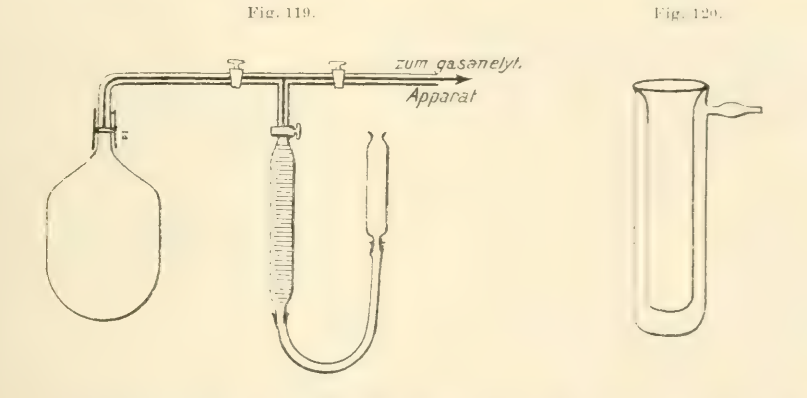
III. KAPITEL.

Gefäße und Anordnungen zur Belichtung von Lösungen.

Zur Erzielung möglichst großer und gleichmäßiger chemischer Lichtwirkungen wird man, wie bereits im vorhergehenden Kapitel erwähnt, die zu belichtende Substanz in möglichst großer, dünner, senkrecht zu den einfallenden Strahlen stehender Schicht ausbreiten. Dies geschieht am besten in Küvetten oder in Gefäßen von untenstehender Form, welche auch das Aufsammeln entweichender Gase gestatten (Fig. 119). In Quarz werden dieselben in ausgezeichneter Ausführung von *Heraeus* in Hanau geliefert.

Von der gleichen Firma habe ich auch ähnliche Gefäße mit 2 Hälsen anfertigen lassen. Dieselben gestatten ein bequemes Herausnehmen von Proben während der Belichtung und sind bei Versuchen mit Dämpfen als

Fig. 119. Fig. 120.



Luftrückflußkühler sehr geeignet. Die Belichtung ist, wie leicht ersichtlich, in diesem Falle sehr wirksam und der schädliche Einfluß nicht flüchtiger Reaktionsprodukte wird vermieden.

Die im Vorhergehenden bereits erwähnten flachen Gefäße empfehlen sich auch für photochemische Versuche mit Sonnenlicht und können dann eventuell auch aus Glas angefertigt werden. Um die bei intensiver Belichtung im Sommer stark in Betracht kommende Wärmeeinstrahlung zu eliminieren, empfehlen sich Lichtfilter, die mit Ferroammoniumsulfat gefüllt sind.

Bei der Herstellung solcher Lichtfilter ist es natürlich sehr wesentlich, daß ein so geringer Teil der wirksamen Strahlen als möglich durch Reflexion und Absorption verloren geht. Für einigermaßen genaue Versuche wird man also nicht umhin können, Gefäße mit planparallelen Wänden anzuwenden. Ich habe deswegen planparallele Scheiben aus Uviolglas von der Firma *Schott & Gen.* zu Küvetten verwendet. Die Absorption der ultra-

violetten Strahlen in denselben ist für Wellenlängen über 260 *mm* sehr gering.

Eine andere Anordnung, einen großen Teil der Wärmestrahlen der Lichtquelle unwirksam zu machen, besteht darin, daß man die belichtete Seite des flachen Reaktionsgefäßes einfach mit Wasser berieselt. Handelt es sich nur darum, eine größere Temperaturerhöhung der belichteten Flüssigkeit zu vermeiden, so genügt es, die Rückseite der flachen Gefäße mit Wasser zu bespülen.

In manchen Fällen empfiehlt es sich, die Belichtungsgefäße mit einem Vakuummantel zu umgeben. Besonders abgeplattete Reagenzröhren lassen sich leicht und billig zu *Dewar*-Gefäßen vervollständigen (Fig. 120).

Will man Lösungen in sehr dünner Schicht bei konstant gehaltener Temperatur intensiv bestrahlen, so können dieselben in ein kleines Bassin

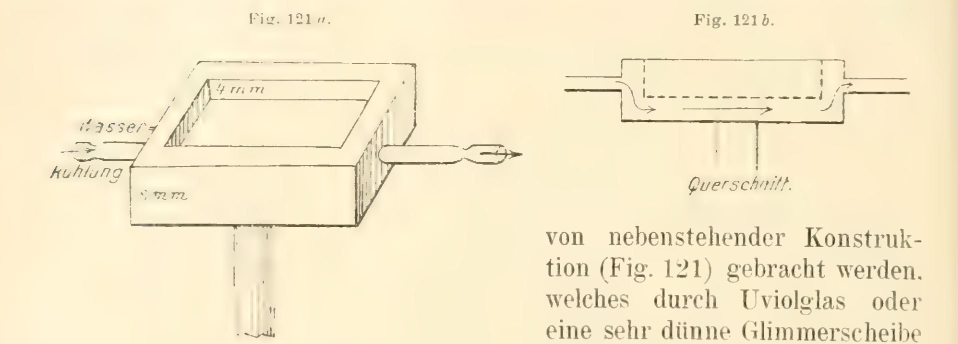


Fig. 121 *a*. Fig. 121 *b*.

von nebenstehender Konstruktion (Fig. 121) gebracht werden, welches durch Uviolglas oder eine sehr dünne Glimmerscheibe bedeckt wird. Die Belichtung geschieht von oben. Die Anordnung gestattet auch, die Schichtdicke in einfacher Weise zu variieren.

Reaktionsapparate nach *Plotnikow* u. A.

Für organische photopräparative Arbeiten, wo es sich also nicht um Messungen der Reaktionsgeschwindigkeit handelt, kann ein einfacher, von *Plotnikow* angegebener Apparat gute Dienste leisten.

Plotnikow weist darauf hin, daß dieser Apparat noch in vieler Hinsicht verbessert werden kann. Die Mängel beruhen besonders auf der Unvollkommenheit der Lampenkonstruktionen und der Schwierigkeit, Quarz zu bearbeiten, ferner aber auch auf unserer mangelhaften experimentellen Erfahrung über die im äußersten Ultraviolett verlaufenden photochemischen Reaktionen.

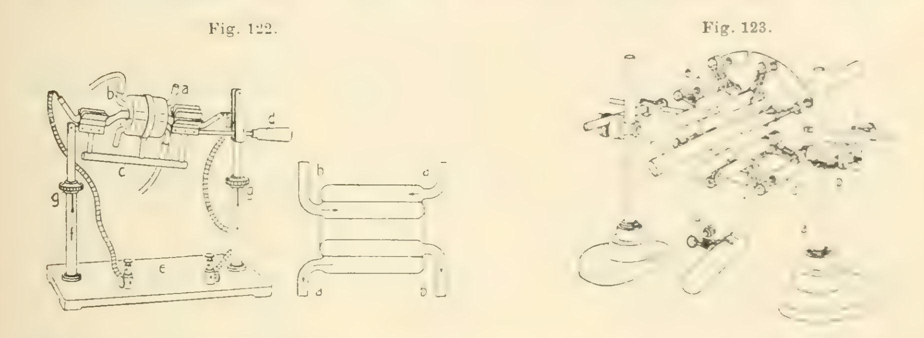
Die im Kapitel I beschriebene Quarzlampe mit der Luftkühlung aus Metall kann mit einem zylindrischen Gefäß umgeben werden, welches folgende Konstruktion besitzt (Fig. 122):

Es besteht aus einem 7 *cm* langen dreiwandigen Zylinder, bei dem der äußere Durchmesser 6 *cm*, der innere 3 *cm* und der der mittleren Scheidewand 4·5 *cm* beträgt. Es sind also zwei 7 *cm* lange Gefäße von

0·75 *cm* Schichtdicke konzentrisch der Lampe ineinander gestellt. Jedes der beiden besitzt ein Aus- und ein Einflußrohr. Dieser doppelte Mantel wird durch einen Metallring an die Lampenflügel befestigt und hindert in keiner Weise der Zündung der Lampe. Das innere Gefäß kann als Kühler und als Lichtfilter zugleich dienen, das äußere als eigentlicher Reaktionsraum. Andererseits kann, wenn es sich um die äußersten ultravioletten von der Quecksilberlampe entsandten Strahlen handelt, der innere Raum mit der Reaktionsmischung gefüllt und der äußere zur Kühlung verwendet werden.

Da man aber mit dem eben beschriebenen Apparat nicht mehr als einen Versuch ausführen kann, hat *Plotnikow* (l. c.) eine Anordnung angegeben, bei welcher gleichzeitig eine größere Anzahl von Proben gleichmäßig belichtet werden können. Mit Hilfe eines besonderen, aus zwei Teilen bestehenden Stativs werden acht Röhren aus Quarz in gleicher Entfernung von der in der Mitte befindlichen Quarzlampe aufgestellt (Fig. 123). Die

Fig. 122. Fig. 123.



Halter sind um eine Achse drehbar, wodurch die Entfernung zwischen der Lampe und den Reaktionsröhren beliebig eingestellt werden kann. Die Röhrenhalter sind auswechselbar. Die Halter werden in zwei Dimensionen hergestellt, eine für die Röhren von 5—15 *mm* und die andere für die Röhren von 18—30 *mm*.

Für die zu belichtenden Gefäße sind gewöhnlich einfache Reagenzröhren aus Quarz angewandt worden. Bei einseitiger äußerer Beleuchtung ist die Einstrahlung sehr schlecht definiert und das Verhältnis der zur Wirksamkeit kommenden Strahlen zum Volumen der Reaktionsflüssigkeit sehr ungünstig.

Da Lösungen, welche gegen ultraviolettes Licht empfindlich sind, dasselbe schon in dünner Schicht recht erheblich absorbieren, so wird man sich lieber flacher Reagenzröhren bedienen.

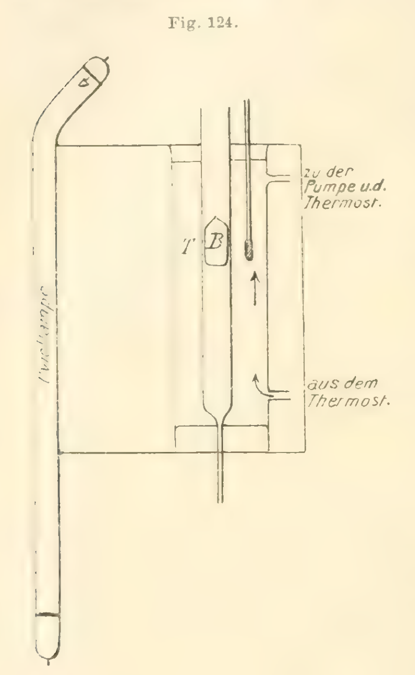
Bei Untersuchungen mit sogenannten Uviollampen dürfte sich folgende ebenfalls von *Plotnikow*[1]) angegebene Versuchsanordnung empfehlen (Fig. 124):

---

[1]) Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 58. S. 222 (1907).

Als Reaktionsgefäß wird ein Glasrohr von 40 *cm* Länge und 3 *cm* Breite benutzt: in diesem befindet sich ein Glasschwimmer *B* von 4 *cm* Länge. Dieses Rohr wird in einem 30 *cm* hohen und 6 *cm* breiten zylindrischen Gefäß *T* mittelst zweier durchbohrter Korke genau konzentrisch befestigt. Ein enges mit Gummischlauch und Quetschhahn versehenes Abflußrohr gestattet zu beliebiger Zeit dem Reaktionsrohr beliebige Mengen des Reaktionsgemisches zu entnehmen. Mittelst eines Wasserkreislaufs (Thermostat Gefäß *T*—Pumpe—Thermostat) kann das Reaktionsgemisch auf jeder beliebigen Temperatur konstant gehalten werden. Das Gefäß *T* kann auch als Lichtfilter benutzt werden. Die obere Hälfte der Uviollampe (oben positiv) sendet in der ganzen Länge von 20 *cm* gleichmäßiges Licht aus, welches bei passender Regulierung des Stromes während mehrerer Tage seine Intensität nicht merklich ändert.

Fig. 124.



Wenn das Reaktionsrohr der Lampe parallel und in gleicher Höhe mit dem oberen Teil der Lampe gestellt wird, so wird es in seiner ganzen Länge gleichmäßig bestrahlt. Somit sind alle Bedingungen, die für Untersuchung einer photochemischen Reaktion notwendig sind (monochromatisches, konstantes Licht und konstante Temperatur) erfüllt. Mehrere solche „Lichtthermostaten“ lassen sich in einem mattgeschwärzten Blechkasten in gleichem Abstand von der Lampe aufstellen. Will man die Lichtintensität verstärken, so kann man umgekehrt rund um das Reaktionsgefäß mehrere Lampen stellen. Die Lichtschwächung wird am besten durch Seidenpapier erzielt.

Die Prüfung der Lampe auf die Verteilung der photochemischen Wirksamkeit über die Länge geschieht in folgender Weise: Ein 2·5 *cm* dickes Glasrohr von derselben Länge wie der Lampe wurde parallel zu derselben in einem Abstand von 10 *cm* und in gleicher Höhe mit der Lampe aufgestellt. Durch eine besondere Vorrichtung konnte das Licht der Lampe vollständig abgeblendet werden. Nachdem es mit dem Reaktionsgemische im Dunkeln gefüllt war (mit dem Schwimmer oben), wurde ungefähr 10 Minuten bestrahlt und das Licht dann wieder abgeblendet. Dann wurden 10mal nacheinander je $^1/_{10}$ der Flüssigkeit ohne umzuschütteln abgelassen und analysiert (die Konzentration des gebildeten Jods bestimmt).

Auf diese Weise wurde die Flüssigkeitssäule der Länge nach in zehn Abschnitte geteilt und in jedem die Lichtwirkung durch das frei gewordene Jod bestimmt.

Die Erfahrung zeigte, daß jeder auch noch so kleine Beschlag des Lampenrohres mit metallischem Quecksilber die Lichtintensität der Lampe sehr stark verändert, und zwar manchmal so unregelmäßig, daß das Bild des Reaktionsverlaufes vollständig verzerrt wird, deshalb ist es sehr wichtig, daß das Lampenrohr vollständig rein ist. Diesem Übelstande ist durch Regulierung von Strom und Zimmertemperatur sehr leicht abzuhelfen. Aus dem gleichen Grunde bringt man die Reaktion auch nicht gleich nach dem Stromschluß (dem Anzünden der Lampe) in Gang, sondern läßt die Lampe etwa $^1/_2$ Stunde lang brennen.

Plotnikow hat noch zahlreiche andere Lampenkonstruktionen und Photothermostaten beschrieben, auf welche hier nur verwiesen werden kann.[1]

Auch der von *H. Thiele*[2] angegebene Apparat für Belichtung chemischer Systeme mit ultravioletten Strahlen kann für photobiochemische Arbeiten in Frage kommen.

Ein Quarzkolben ist vermittelst eines Schliffes, dessen Teile durch Federn zusammengehalten werden, an ein mit Hahn versehenes Glasrohr angesetzt. Durch die Bohrung des Hahnes kann zur Füllung des Kolbens mit dem zu untersuchenden Gasgemisch ein Glasrohr geführt werden. Der Abschluß bei geöffnetem Hahn geschieht durch Quecksilber. Das damit gefüllte Rohr steht mit einem anderen in Verbindung, welches als Barometerrohr ausgebildet ist und mit der Luftpumpe in Verbindung steht. Während der Messungen vor und nach den Bestrahlungen wird über den Quarzkolben ein Glasmantel geschoben und von Wasser durchströmt. Die Bestrahlung erfolgt ohne diesen Glasmantel von der einen Seite her durch das Licht einer gewöhnlichen Hochspannungslampe von *Heraeus*. Starke Erwärmung wird dadurch vermieden, daß der Quarzkolben während der Versuche von einer Schicht Leitungswasser überrieselt wird. Wegen der starken Inhomogenität des Lichtfeldes ist die Anordnung allerdings nur für qualitative Versuche geeignet.

Bei quantitativen Arbeiten ist es vielfach wünschenswert, einen Teil der Lichtquelle abzublenden. Zu diesem Zweck sind speziell für die Uviollampe geeignete Vorrichtungen von *Plotnikow* konstruiert worden. Dieselben sind in der von diesem Verfasser herausgegebenen Monographie beschrieben worden. Eine derselben besteht aus zwei konzentrischen, innen mit Asbest belegten Aluminiumröhren vom Durchmesser von etwa 2·5 *cm* und 3·5 *cm*. Die Längen der beiden Röhren sind so gewählt, daß sie die beiden Hälften der Lampe bedecken und somit das ganze Licht abblenden. Das obere Rohr kann konzentrisch über das untere herabgelassen werden und gibt dann den zu quantitativen Versuchen geeigneten oberen Teil der Lampe frei. Auch Abblendekästen mit Irisblenden sind konstruiert worden und im Handel.

---

[1]) Siehe z. B. Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 75. S. 341 (1911); vgl. auch *Luther* und *Plotnikow*, Ebenda. Bd. 61. S. 521 (1908).

[2]) Zeitschr. f. angew. Chemie. Bd. 22. S. 2472 (1909).

Was schließlich den Einfluß der Entfernung zwischen Lichtquelle und belichtetem Gefäß betrifft, so gilt ja bei punktförmig gedachter Lichtquelle das Gesetz, daß pro Einheit bestrahlter Fläche die Lichtintensität sich mit dem Quadrat der Entfernung ändert.

Aus theoretischen Betrachtungen folgt, daß, wenn eine Fläche durch ein unendlich langes und schmales leuchtendes Band beleuchtet wird, die Intensität der Beleuchtung dieser Fläche sich einfach umgekehrt proportional mit der Entfernung ändert.

Die Erfahrung hat ergeben, daß die Intensität der Beleuchtung einer Uviollampe in Übereinstimmung mit der Theorie in einem Abstandsbereich von etwa 10—50 *cm* einfach umgekehrt proportional der Entfernung ist.

ANHANG.

Einige Bemerkungen über den Einfluß der Temperatur und der Sensibilisatoren.

A. Temperatur.

Bei der Bestrahlung lichtempfindlicher chemischer Systeme tritt in der Regel eine Temperaturerhöhung ein, und es ist zur quantitativen Verfolgung der Vorgänge erforderlich, den Einfluß der höheren Temperatur von demjenigen der wirksamen Strahlen zu trennen.

Bei rein chemischen Reaktionen steigt die Geschwindigkeit bei einer Temperaturerhöhung von 10° in der Regel um 100—200%. Der Einfluß der Temperatur auf die Reaktionsgeschwindigkeit wird durch die von *Arrhenius* aufgestellte Formel

$$k_1 = k_0 e^{\frac{A (T_1 - T_0)}{2 T_1 T_0}}$$

dargestellt, wo k_1 und k_0 die Geschwindigkeitskonstanten bei den Temperaturen T_1 und T_0 bedeuten; T sind die absoluten Temperaturen, A ist eine Konstante. Es ist nun eine der auffallendsten Eigenschaften photochemischer Prozesse, daß sie von der Temperatur bedeutend weniger abhängig sind, als durch das Licht nicht beschleunigte Reaktionen. Aus einer von *Coehn*[1]) aufgestellten Tabelle ergibt sich als Mittel von 10 photochemischen Reaktionen als Temperaturkoeffizient für 10° der Wert 1·16.

Diese auffallende Erscheinung hat man in der Weise deuten wollen, daß photochemische Reaktionen Vorgänge „im heterogenen System“ sind. Indessen hängt aber der niedrige Temperaturkoeffizient der Lichtstrahlen gar nicht mit der Inhomogenität der Lösung zusammen, sondern ist darauf zurückzuführen, daß der Zustand, in welchem sich die Moleküle unter der Einwirkung der Strahlen befinden, von der Temperatur wenig beeinflußt wird.

---

[1]) Jahrb. d. Radioaktivität u. Elektr. Bd. 7. S. 577 (1911).

In experimenteller Hinsicht ließe sich schließen, daß bei quantitativen Lichtversuchen die Temperatur weniger exakt eingehalten zu werden braucht als bei Dunkelreaktionen. Dies trifft in manchen Fällen auch zu. So zeigt z. B. die Lichtzersetzung der Milchsäure einen äußerst kleinen Temperaturkoeffizienten und eine Schwankung der Temperatur um etwa 5° hat auf die Reaktionsgeschwindigkeit kaum einen merkbaren Einfluß.[1] Von vornherein läßt sich aber durchaus nicht sagen, ob nicht die Temperatur irgend eine Phase des unter dem Einfluß von Licht eintretenden Vorganges stark beeinflußt und dadurch eine erhebliche Wirkung auf den ganzen Vorgang ausübt.

Was den Einfluß des Lösungsmittels betrifft, so liegen bis jetzt wenige Erfahrungen vor; *Plotnikow* hat die Reaktion zwischen Jodoform und Sauerstoff in Alkohol und Benzol untersucht. In biochemischer Hinsicht würden außer Wasser zunächst die Lipoide und Eiweißemulsionen als Lösungsmittel das Interesse beanspruchen.

B. Sensibilisatoren.

Sensibilisatoren spielen bei Lichtreaktionen vermutlich eine noch allgemeinere Rolle als Katalysatoren bei Dunkelreaktionen. In vielen Fällen dürfte die Lichtwirkung in der photochemischen Bildung von Katalysatoren bestehen. *Winther* bezeichnet diese Vorgänge als „indirekte Lichtreaktionen". Die absorbierten Lichtmengen sind bei denselben kleiner als die für die beobachteten chemischen Wirkungen notwendigen Energiemengen.[2]

Es ist wahrscheinlich, daß viele organische Stoffe lichtempfindlich gemacht werden können bzw. daß eine wirkliche Photosensibilität zutage tritt, wenn ihnen ein geeigneter katalysierender Stoff zugesetzt wird.

Was die Wirkungsweise von Sensibilisatoren betrifft, so sind die Meinungen darüber noch immer sehr geteilt, und gewöhnlich wird noch zwischen optischen und chemischen Sensibilisatoren unterschieden. Ohne diese Verhältnisse näher diskutieren zu wollen, sei doch darauf aufmerksam gemacht, daß aller Wahrscheinlichkeit nach sämtliche sensibilisierende Stoffe sich chemisch in irgend einer Weise an der Lichtreaktion beteiligen, oft als Katalysatoren, seltener durch eigene dauernde Veränderung. In den meisten Fällen wird der Sensibilisator im Licht oxydiert oder reduziert und sein Reaktionsprodukt übt katalytische Einwirkung auf das Substrat aus.

Ein gutes Beispiel hierfür bietet Glyzerin, welches nach *Benrath* als Sensibilisator beim Ausbleichen von Methylenblau, Scharlach und anderen Farbstoffen fungiert. Glyzerin wird dabei im Licht in Gegenwart von Sauerstoff zu Glyzerinaldehyd oxydiert, welcher seinerseits auf die belichteten Farbstoffe einwirkt.

---

[1]) *Euler* und *Ryd*, Biochem. Zeitschr. Bd. **51**. S. 97 (1913).

[2]) Zeitschr. f. wiss. Phot. Bd. **11**. S. 92 (1912).

Unter denjenigen Stoffen, welche als Sensibilisatoren chemischer Reaktionen in Betracht kommen, spielt natürlich das Chlorophyll die allererste Rolle.[1]) Zweifellos sind aber auch andere Farbstoffe, besonders der Pflanzenwelt, für die photochemisch beeinflußten Reaktionen des Organismus von größter Bedeutung.

Unter den anorganischen Stoffen, welche photochemische Reaktionen hervorrufen, sind seit langer Zeit die Uranylsalze als besonders wirksam bekannt. Ebenso sind durch die Versuche von *Bunsen* und *Roscoe* u. a. die Eisensalze als lichtempfindlich erkannt worden. Wie ausgedehnt diese sensibilisierende Wirkung des Uranyls und des Eisens ist, geht wohl am besten aus neueren Untersuchungen von *Neuberg*[2]) hervor, welcher gegen 100 organische Substanzen in Gegenwart von Uranyl und Eisen belichtet hat. Unter den Lichtwirkungen, welche in dieser Weise beobachtet worden sind, spielen Oxydationen und Hydrolysen die Hauptrolle. Synthetische, unter dem Einfluß dieser Katalysatoren erfolgende Wirkungen sind dagegen bis jetzt nicht beobachtet worden.

Besondere Erwähnung beanspruchen die Farbstoffe, welche alle durch das Licht verändert werden, aber in sehr verschiedenem Grade. Exakte Forschungen über die Natur der Photoreaktionen liegen auf diesem Gebiete nur vereinzelt vor. Auf manometrischem Weg hat *Gros* den Beweis erbracht, daß die Fluoreszeine im Licht oxydiert werden. In welcher Weise die Photoreaktion eines Farbstoffes durch Zusätze fremder Stoffe verzögert oder beschleunigt werden kann, ist nur in verhältnismäßig geringen Fällen erwiesen. Man kennt für einige Farbstoffe negative Katalysatoren, welche die Lichtempfindlichkeit schwächen und also eine größere Lichtechtheit erzeugen. Derartige, die Farbstoffe stabil machende chemische Substanzen spielen aller Wahrscheinlichkeit nach in lebenden Pflanzen eine wichtige Rolle und erhalten besonders Chlorophyll und Caroten trotz andauernder Belichtung unverändert.

Bei den nicht umkehrbaren Photoreaktionen spielen die Katalysatoren in bezug auf die Art des eintretenden Vorganges eine ausschlaggebende Rolle. Als Beispiel sei die Reaktion zwischen Chlor und Benzol erwähnt. Wirkt Chlor auf Benzol ein, so können sich im wesentlichen zwei Reaktionen vollziehen, nämlich die Bildung von Hexachlorid (Addition) und die Bildung von Chlorbenzol (Substitution). Welche von den beiden Reaktionen

[1]) Anmerkung. Einen Versuch, Chlorophyll als Katalysator der biophotochemischen Reduktion der Kohlensäure außerhalb der Pflanze zu verwenden, machten *Usher* und *Priestley*, Proc. Roy. Soc. Vol. 78. p. 318 (1906) mit folgender Anordnung: Auf Glasplatten von $12 \times 10\ cm^2$ wurde mittelst einer wässerigen Lösung Gelatine bis zu einer Dicke von 2 *mm* aufgetragen. Diese Schicht wurde mit einer Lösung von Chlorophyll in Petroläther oder Benzol bestrichen. Der in dieser Weise gleichförmig hergestellte (die Dicke betrug etwa $6 \cdot 10^{-3}$ *mm*) Film von Chlorophyll wurde in eine Atmosphäre von Kohlendioxyd gestellt und Strahlen ausgesetzt, welche durch die Kohlensäureatmosphäre passierten. Ein Erfolg wurde, wie sich später zeigte, nicht erzielt.

[2]) Biochem. Zeitschr. Bd. **13**. S. 305 (1908). Bd. **27**. S. 271 (1910) und Bd. **29**. S. 279 (1910).

eintritt, hängt zunächst ab von der Lichtintensität. In der Dunkelheit ist die Einwirkung des Chlors so träge, daß man die beiden Reaktionsgeschwindigkeiten der Dunkelreaktionen vernachlässigen kann. Im Licht vollzieht sich dagegen die Umsetzung sehr schnell, und zwar fast ausschließlich unter Bildung des Hexachlorides; Monochlorbenzol entsteht nur in geringer Menge. Hieraus folgt zunächst, daß nur die erste Reaktion lichtempfindlich ist. Die beiden verschiedenen Reaktionen werden nun in ihrer Geschwindigkeit durch Katalysatoren beeinflußt, und man sieht, wie mannigfaltig die katalytischen Vorgänge in diesem scheinbar einfachen Fall sind.

Allgemeine Sätze lassen sich über die Wirksamkeit der Sensibilisatoren und Photokatalysatoren zur Zeit noch nicht aufstellen[1], und dieses Kapitel der biophotochemischen Arbeitsmethoden bleibt der künftigen Forschung vorbehalten.

---

[1]) Bemerkenswerte Gesichtspunkte über Sensibilisatoren findet man bei *Winther*, Zeitschr. wiss. Phot. Bd. **9**. S. 229 (1910).

Mikroskopische Technik.

Von **G. Herxheimer**, Wiesbaden.

Zweck mikroskopischer Untersuchung ist es, solche Verhältnisse der Gewebe, welche nicht oder nicht mit Sicherheit mit bloßem Auge oder mit der einfachen Lupenvergrößerung erkannt werden können, mit Hilfe der Vergrößerung durch das Mikroskop der direkten Anschauung zugänglich zu machen. Für uns kommen als Objekt tierische und menschliche Gewebe, einmal in normalem, sodann in pathologisch verändertem Zustande in Betracht. Die Untersuchung der beiden letztgenannten ist im ganzen die gleiche, so daß wir hier einzelne Unterscheidungen nicht zu machen brauchen. Manche Methoden sind mehr in der normalen, manche mehr in der pathologischen Anatomie in Gebrauch. Ich werde mich in vorliegendem Aufsatze mehr an die Methoden der letzteren halten, nicht nur weil sie mir naturgemäß näher liegen, sondern weil es sich wohl kaum leugnen läßt, daß gerade in den pathologisch-anatomischen Instituten eine größere Variabilität der histologischen Methoden benötigt wird und im Gebrauch ist.

Entweder untersuchen wir das als Objekt dienende Gewebe in frischem Zustande und dann meist ungefärbt oder aber in fixiertem und gehärtetem Zustand mit Hilfe feinerer Schneide- und Färbemethoden. Diese kommen in erster Linie in Betracht und sollen hier in ihren Grundzügen geschildert werden.

Ich kann aber im Folgenden nur die Grundlagen der histologischen Methodik und insbesondere der Färbetechnik kurz zeichnen. Wegen aller Details, insbesondere auch beim praktischen Arbeiten, sei auf die zu letzterem Zwecke besonders zusammenestellten technischen Bücher hingewiesen. Ich nehme hier in erster Linie Bezug auf meine „Technik der pathologisch-histologischen Untersuchung", welche sich, weit ausführlicher und zum praktischen Arbeiten eingerichtet, naturgemäß mit meinen vorliegenden Auseinandersetzungen vielfach deckt. Ich verweise desgleichen auf die vorzüglichen technischen Hilfsbücher von *Schmorl* und von *v. Kahlden-v. Gierke.*

Instrumentarium: Als solches ist naturgemäß in erster Linie ein gutes Mikroskop vonnöten. Die deutsche Industrie kann stolz sein auf

den Weltruf, welchen die *Zeiss*schen Mikroskope (Jena) überall genießen; auch die billigeren Instrumente von *Winkel* (Göttingen) sind durchaus zu empfehlen. Außerordentlich verbreitet sind auch die von *Leitz*, *Hartnack* etc. Eine Beschreibung des Mikroskopes und seiner Anwendung soll hier nicht gegeben werden. Auf der einen Seite ist hier Übung weit wichtiger als alle theoretischen Auseinandersetzungen, andererseits darf eine gewisse Übung im Mikroskopieren wohl bei allen Benutzern dieses Handbuches vorausgesetzt werden. Zur genaueren Information sei auf die Bücher von *Frey*, *Behrens*, *Kossel* und *Schiefferdecker* verwiesen. Als Lichtquelle ist, vor allem für das Farbenbild, das Tageslicht (kein direktes Sonnenlicht verwenden) durch nichts zu ersetzen. Für manche Untersuchungen aber, wo es nur auf hellste Lichtquelle ankommt, ist künstliches Licht vorzuziehen; solches ist ferner ja aus äußeren Gründen, wenn das Tageslicht versagt, häufig unbedingt erforderlich. Dann ist Gasglühlicht zu empfehlen, und es wird in das Mikroskop unter den Kondensor zum Abfangen der überflüssigen gelben Strahlen ein blaues Glas eingelegt, oder eine sogenannte Schusterkugel verwandt, welche mit durch Ammoniakzusatz intensiv blau gefärbter Kupfersulfatlösung gefüllt ist. Auch sind eigene Mikroskopiertischlampen im Gebrauch, wie solche von *Hartnack*, *Wolz*, *Kochs*, *Lassar* etc. konstruiert wurden.

Von Wichtigkeit gerade auch bei dem für die Physiologie in Betracht kommenden histologischen Arbeiten sind einige für besondere Zwecke benutzte Nebenapparate des Mikroskops.

Hier kommt zunächst in Betracht der bewegliche Objekttisch. Es gibt einmal solche, welche dem Mikroskop fest eingefügt sind, also als stets zu gebrauchender Objekttisch dienen, und zweitens solche, welche je nach Wunsch zu besonderem Gebrauche aufgeschraubt werden. Die letzteren sind mehr zu empfehlen, da mir der feststehende Objekttisch für den gewöhnlichen Gebrauch, besonders auch da die Bewegung auch großer Präparate freier ist, empfehlenswerter erscheint. Die neuen Kreuztische, besonders in der Ausführung von *Zeiss*, bieten den Vorteil sehr großer und überaus feiner Beweglichkeit und insbesondere gestatten sie bei absoluter Zentralisierung des Kondensors jede Stelle des Präparates mit Hilfe zweier Koordinaten zahlenmäßig feststellen und die genaue Stelle stets leicht wieder auffinden zu können. Sie machen hierdurch besondere Markierungen einzelner Stellen im Präparate mit Hilfe von Tinte oder dergl. oder auch bestimmte zur Wiederauffindung solcher Stellen eigens konstruierte Apparate wie z. B. den *Sachs-Mücke*schen „Objektfinder" (zu beziehen durch Gebrüder *Mittelstrass*, Magdeburg) oder andere Vorrichtungen, wie sie z. B. in einfachster Weise *De Vescovi* angegeben hat, überflüssig.

Der heizbare Objekttisch dient zur Beobachtung lebender, vor allem beweglicher Objekte; auch ist er ganz besonders zum Studieren mancher physiologischer Verhältnisse vonnöten. Die Anforderungen, einmal die Temperatur konstant zu halten, andererseits sie beliebig erhöhen und

erniedrigen zu können und dabei die mikroskopische Untersuchung nicht zu stören, sind keine geringen. Eine große Anzahl von Apparaten ist infolgedessen konstruiert worden. Als Wärmequelle wurde zunächst die Flamme, später Durchleiten von warmem Wasser, endlich der elektrische Strom benutzt. Nach dem von *Müller*-Stockholm verfaßten guten Artikel über den vorliegenden Gegenstand in der „Enzyklopädie der mikroskopischen Technik" (II. Auflage, Urban & Schwarzenberg, Berlin-Wien 1910), auf welchen wegen aller Details verwiesen sei, rührt die erste Heizvorrichtung schon 1839 von *Chevalier* her. Eines der ersten Prinzipien stammt auch von *Schweigger-Seidel* und *Rollette*, welches besonders in der Ausarbeitung von *Max Schultze* viel in Gebrauch war. Es handelt sich hier um eine hufeisenförmige Metallplatte, deren nach beiden Seiten auslaufende Arme durch Spiritusflammen erhitzt werden. Der Nachteil dieser Apparate ist, daß große Fehler in der Temperatur dadurch entstehen können, daß die Temperatur des Objektives die Temperatur des Objektes beeinflußt, ein Punkt, der vor allem von *Engelmann* betont wurde.

Sodann kamen die heizbaren Objekttische auf, deren Prinzip darin besteht, eine Erhitzung durch fließendes warmes Wasser herbeizuführen. *Müller* schreibt, daß er nicht ausfindig machen konnte, wer zuerst den Heiztisch dieser Form erfand. Er führt diejenigen Heiztische an, welche von *Ranvier* (1865), *Polaillon, Eckhard, Schklarewsky, Dallinger, Stricker, Hartley, Samons, Maddox, Flesch, Löwit* und *Schäfer* konstruiert wurden. Die Apparate von *Israel, Vignal* und *Babes* suchen den auch den genannten Apparaten anhaftenden Fehler, wie er oben von dem *Schultze*schen Apparat erwähnt wurde, zu beseitigen. Ein neuerer (1895) besonders empfehlenswerter Apparat stammt von *Behrens*. Hier gelangt das Objektiv durch ein Loch in den in der Form eines Metallkastens gehaltenen Apparat selbst. Komplizierte Verhältnisse im Kasten sorgen für Selbstregulierung.

Des weiteren gibt es größere Konstruktionen, bei welchen das ganze Mikroskop in einen Wärmeschrank eingefügt wird. Die ältesten derartigen stammen von *Panum* und *Sachs*. Oder aber man verwandte auch ein Wasserbad von regulierbarer Temperatur und eventuell wird auch hierbei der untere Teil des Mikroskops ganz in das Wasserbad eingebracht. Ein solcher Apparat wurde zuerst von *Ranvier* konstruiert.

Neuerdings wird auch der elektrische Strom als Wärmequelle benutzt, zuerst wohl angewandt von *Stricker*, weiter ausgearbeitet von *Stein, Kraus* oder in England von *Ross*, dessen Apparat von *Drake & Gorham* in London hergestellt wird.

Zur Untersuchung der Gewebe lebender warmblütiger Tiere, besonders des Mesenteriums sind eigene Apparate, welche nicht nur höhere Temperaturen erlauben, sondern auch gegen Austrocknung bzw. Verdunstung schützen, besonders von *Stricker* und ganz besonders von *Thoma* konstruiert und von mehreren Autoren verbessert worden. Wegen aller Einzelheiten sei auf den schon erwähnten Artikel von *Müller*, welcher die Untersuchung der Gewebe in frischem Zustande überhaupt wieder mehr betont, verwiesen.

Ein Okularmikrometer, d. h. ein mit eingeätzten Teilstrichen versehenes kleines Glasplättchen, welches in dem Okular angebracht oder einfügbar ist, dient zu Meßzwecken. Die Skala des Okulars und das Bild müssen genauestens eingestellt sein; man soll am besten nur in der Mitte messen und zur Sicherheit die Messung bei gleichem Tubus öfters wiederholen. Neuerdings werden statt der Meßstriche nach *Gerhardt* von *Zeiss* an den Glasplättchen kleine schwarze und rote Quadrate angebracht. Um für jede einzelne Vergrößerung, d. h. die Kombination des Objektives und Okulars plus Tubuslänge, die objektive Größe der eingeätzten Teilstriche oder Quadrate feststellen zu können, muß man sich eines sogenannten Objektmikrometers bedienen, d. h. eines Objektträgers, auf dem 1 *mm* in 100 gleiche Teile eingeteilt ist; so kann man den Abstand zwischen zwei Teilstrichen des Mikrometers berechnen bzw. ablesen. Am einfachsten sind Mikrometer von *Zeiss*, bei welchen bei bestimmter Tubuslänge der Abstand zwischen zwei Teilstrischen gerade soviel Mikra beträgt, als das apochromatische Objektiv Brennweite hat. *Kaiserling* empfiehlt mit Hilfe mikrophotographischer Bilder Messungen anzustellen. Man photographiert dann auch bei derselben Vergrößerung den Objektmikrometer und vergleicht mit dem Negativ. Um Höhenmessungen von Geweben und auch von Deckgläschen vornehmen zu können, braucht man nur die nötige Zahl der Umdrehungen der Mikrometerschraube besonders bei der neueren von *Berger* konstruierten, von *Zeiss* ausgeführten, abzulesen.

Bei mikroskopischen Untersuchungen auf Doppelbrechung (neuerdings besonders bei den Lipoiden) ist eine Polarisationseinrichtung vonnöten. Der Polarisationsapparat besteht aus einem Polarisator und einem Analysator. Ich lasse hier die kurze Beschreibung des Prinzipiellen folgen, wie ich sie in meiner „Technik" gegeben habe, und verweise wegen aller Einzelheiten auf den Artikel über das Polarisationsmikroskop aus der Feder von *Magnus* in der Enzyklopädie der mikroskopischen Technik, sowie vor allem auf das ältere ausführliche Buch von *Ambronn* (Anleitung zum Gebrauch des Polarisationsmikroskops, 1892). Der Polarisator wird von einem *Nicol*schen Prisma dargestellt. Er kann entweder in eine Zylinderblende eingeschoben oder in den Blendenträger des *Abbé*schen Beleuchtungsapparates eingehängt werden. Der Analysator wird am Tubus des Mikroskops über dem Okular befestigt; es gibt auch besonders konstruierte Apparate (*Abbé*sche Analysatorokulare), welche statt eines anderen Okulares in den Tubus eingeschoben werden. Bei „parallelen Nicols", d. h. bei paralleler Stellung der Polarisationsebenen des Polarisators und Analysators erscheint das Gesichtsfeld hell. Bei „gekreuzten Nicols", d. h. bei aufeinander senkrecht stehenden Polarisationsebenen des Polarisators und Analysators, erscheint das Gesichtsfeld dunkel. Seitliches Licht muß ausgeschaltet werden; man blendet am besten durch einen nur den Mikroskopspiegel freilassenden Schirm ab. Zur Untersuchung stellt man das Objekt zunächst bei parallelen Nicols in der Mitte des Gesichtsfeldes scharf ein. Durch Herstellung gekreuzter Nicols (Drehung des Analysators um 90°) wird das Ge-

sichtsfeld in das Maximum der Dunkelheit übergeführt und somit schon stärkere Doppelbrechung durch Aufleuchten erkennbar. Mittelst des drehbaren Objekttisches dreht man nun das Objekt langsam um 360° ringsum, wobei doppeltbrechende Substanzen 4mal aufleuchten und 4mal dunkel erscheinen müssen, indem die Stellungen untereinander um je 45°/₀ voneinander verschieden sind. Wiederholt man dies, indem man das Präparat verschieden präpariert etc., und bleibt dasselbe stets dunkel, ohne bei der Drehung aufzuleuchten, so ist keine oder nur äußerst geringe Doppelbrechung vorhanden. Ist das Resultat zweifelhaft, d. h. eine, aber nur äußerst geringe, Doppelbrechung zu erkennen, so kann man die Probe dadurch noch sensibler gestalten, daß man auf den Polarisator sogenannte „verzögernde" Gips- oder Glimmerplättchen, und zwar meist von Rot erster Ordnung auflegt und so einstellt, daß (bei gekreuzter Stellung des Nicols) das Gesichtsfeld das Rot erster Ordnung im Maximum seiner Intensität aufweist. Wird jetzt der Objekttisch mit dem Objekt um 360° gedreht, so erscheint das Objekt, wenn es doppeltbrechend ist, 4mal in der Grundfarbe des Rot erster Ordnung, 2mal in der sogenannten Additionslage, z. B. Dunkelpurpur, ebenso oft in der sogenannnten Subtraktionslage, z. B. gelblich-braun.

Zur spektroskopischen Bestimmung der genauen Lage von Lichtabsorptionsstreifen und ihrer Stärke im Mikroskop müssen an Stelle der gewöhnlichen Okulare Spektralokulare eingeschaltet werden. Über diese nur bei Spezialuntersuchungen verwendete Methode sei auf den betreffenden Artikel („Mikroskopie" von *Zoth*) in der Enzyklopädie hingewiesen, wo das am meisten gebrauchte Spektralokular von *Abbé* genauer beschrieben wird.

Des weiteren ist unter Umständen eine Dunkelfeldbeleuchtung vonnöten. Ihre praktische Anwendung hat sie jüngst z. B. vor allem bei der frischen Untersuchung auf Spirochaeten gefunden. Man kann eine Dunkelfeldblende verwenden, für genauere Untersuchungen aber ist ein besonderer Apparat, der sogenannte Paraboloidkondensor, welcher an Stelle des gewöhnlichen Kondensors eingefügt wird, vorzuziehen. Man muß eine starke Lichtquelle benutzen, am besten Gasglühlicht (Schusterkugel verwenden), welches einen Abstand von 15 *cm* von der Schusterkugel und diese einen ebensolchen von dem Mikroskopspiegel einhalten soll. Der Planspiegel wird verwandt und er muß möglichst ganz gleichmäßig beleuchtet sein. Auf den Kondensor bzw. den eben erwähnten Paraboloidkondensor wird mit Hilfe eines Tröpfchens Zedernholzöl der Objektträger, ohne daß Luftblasen dazwischen liegen dürfen, aufgepreßt. Die Objektträger und Deckgläschen müssen sehr gut gereinigt, letztere sehr dünn sein. Man verwendet mittlere und vor allem starke Trockensysteme.

Wegen dieser Apparate und ebenso wegen des bei besonderen Untersuchungen zu verwendenden sogenannten Ultramikroskops zur Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen (nach *v. Siedentopf* und *Zsigmondy*) sei vor allem auf die den Apparaten besonders von der Firma *Zeiss* beigegebenen Gebrauchsanweisungen verwiesen.

Sonstige Utensilien: Um von einem Organ oder dgl. kleine Stücke zur histologischen Untersuchung entnehmen zu können, sind Pinzette, Messer (Skalpell), Schere nötig. Die einfache frühere Methode bediente sich zum Herstellen mikroskopischer Schnitte des Rasiermessers, welches auch jetzt noch hie und da gebraucht wird und wohl an keinem Arbeitstisch fehlt. Das Doppelmesser dürfte heute fast überall außer Gebrauch sein. Von größter Wichtigkeit sind aber heute gute Mikrotome zur Herstellung einmal von Gefriermikrotomschnitten, andrerseits von feinen Celloidin- und Paraffinschnitten. Zu ersterem Zwecke stehen die Gefriermikrotome zur Verfügung, früher unter Benutzung von Äther, vor allem in den Apparaten von *Jung* (Heidelberg), jetzt vor allem in der außerordentlich viel praktischeren und schnelleren Anwendungsweise des Kohlensäure-Gefriermikrotoms, von denen das *Becker-Sartorius*sche (Göttingen) außerordentlich zu empfehlen ist; es hat auch den Vorzug der Billigkeit (100—150 Mk.), so daß es auch in kleineren Betrieben gut angeschafft werden kann. Für das eingebettete Objekt stehen kleinere und größere sehr fein gearbeitete Mikrotome zur Verfügung, unter denen ganz besonders das von *Schanz* (Dresden), ferner die von *Sartorius* (Göttingen), *Jung* (Heidelberg) etc. hergestellten Apparate genannt seien. Steht hier der Block fest und wird das Messer bewegt, so ist bei den für Paraffinserien außerordentlich zu empfehlenden Mikrotomen nach *Minot* das Umgekehrte der Fall. Für sehr große Schnitte besonders durch das ganze Gehirn stehen sogenannte Tauchmikrotome zur Verfügung. Aus den gleichen Gründen wie das Mikroskop braucht auch das Mikrotom hier nicht beschrieben zu werden. Es genügen diese kurzen Bemerkungen.

Des weiteren werden Zentrifugen und Paraffinöfen benötigt. Reichlich müssen Glasflaschen, Tropfgläser, Glasschalen, welche zugedeckt werden können, zur Verfügung stehen. Spatel, Pinsel und Präpariernadeln sind stets nötig. Unter den letzteren sind ausgezogene feine Glasstäbchen sehr zu empfehlen, bei manchen Methoden, welche mit Silber, Eisen etc. arbeiten, direkt nötig. Es kommen aber auch Platinnadeln und Stahlnadeln, welche man sich auch aus Häkelnadeln mit Holzgriffen besonders billig durch Abfeilen der Spitzen herstellen kann), in Betracht. Besonders wichtig ist es, daß diese Nadeln stets allseitig glatt sind und keinerlei Rauhigkeit aufweisen, an welchen Schnitte hängen bleiben könnten. Zu diesem Zwecke muß Schmiergelpapier zur Verfügung stehen. Die Stahlnadeln ebenso wie die Glasnadeln sind am vorderen Ende unter einem fast von jedem Arbeitenden je nach seiner Gewohnheit anders gewünschten Winkel zu biegen.

Natürlich werden vollkommen gereinigte Objektträger und Deckgläschen, letztere im allgemeinen nicht allzu fein (damit sie nicht sofort zerbrechen), aber vor allem niemals zu dick (Einstellung mit der Ölimmersion sonst nicht möglich) stets zur Verfügung stehen müssen.

Naturgemäß muß reichlich fließendes und im übrigen auch destilliertes Wasser zur Verfügung stehen; desgleichen Filtrierpapier in großen

Massen zum Abtrocknen der Schnitte (s. unten) sowie zum Filtrieren von Flüssigkeiten, endlich Farbstifte zum Bezeichnen der Gläser und Objektträger und Etiketten zu demselben Zwecke.

Der Arbeitstisch ist am besten mit einer dicken Glasplatte zu belegen. An einer Stelle desselben soll unter der Glasplatte schwarzes Papier eingeschoben oder sonstwie der Untergrund dunkel gemacht sein, da man vor allem die Aufhellung eines Objektes in Xylol nur auf schwarzem Untergrund gut beurteilen kann. Steht keine Glasplatte zur Verfügung, so legt man große Streifen Filtrierpapier und an einer Stelle schwarzes Papier auf den Arbeitstisch.

Es sollen nunmehr die Flüssigkeiten und Farblösungen, welche am meisten benötigt werden, kurz zusammengestellt werden, da man sie in der histologischen Technik fast stets brauchen wird: Formol (käufliches 40%iges, verdünntes 10%iges), *Müller*sche Flüssigkeit, Chromsäurelösung, bzw. Lösung von Kalium bichromicum, konzentrierte Sublimatlösung, 70%iger, 96%iger, absoluter Alkohol, Salzsäurealkohol (1—2%ige Salzsäure in 70%igem Alkohol), Äther, Karbolxylol, Anilinölxylol, schweflige Säure, Trichloressigsäure, Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Ammoniak, Kalilauge, *Lugol*sche Lösung, Eisessig, Liquor ferri sesquichlorati, Silbernitratlösung, (2%ige und 10%ige) Natronlauge, Lösung von Lithion carbonicum, Karbolsäure (kristallisierte), Osmiumsäure (in Substanz), dünnere und dickere Lösungen von Celloidin, geschmolzenes Paraffin.

Von Farblösungen werden stets vorrätig zu halten sein: Lösungen von Hämatoxylin, Karmin, Methylenblau, Karbolfuchsinlösung, Anilinwasser-Methylviolett, Lösung von Sudan III oder Scharlach R., Safraninlösung, *van Gieson*-Flüssigkeit, *Giemsa*-Lösung, *Weigert*sche Flüssigkeit für elastische Fasern, Markscheidenbeizen nach *Weigert* und *Weigerts* Borax-ferricyankalium-Differenzierungsflüssigkeit etc. etc.

Zur mikroskopischen Untersuchung werden, wie oben bereits angedeutet, die Objekte, besonders wenn es sich um Flüssigkeiten handelt, frisch untersucht. Hiervon soll der erste Abschnitt vorliegender Zusammenstellung handeln:

oder die Objekte werden fixiert und gehärtet: Abschnitt II;

sie werden dann entweder mit Hilfe von Gefriermethoden geschnitten: Abschnitt III;

oder aber die Objekte werden nach der Fixierung und Härtung in ein Medium, in welchem sie sich in besonders dünne Schnitte zerlegen lassen, eingebettet und dann geschnitten: Abschnitt IV;

die von gehärteten Objekten gewonnenen Schnitte, einerlei, ob nach dem Gefrierverfahren oder nach Einbettung, werden dann weiter behandelt, um wasserfrei und durchsichtig gemacht zu werden. Hiervon soll der Abschnitt V handeln.

Eingeschoben wird aber hierbei eine einfachere oder kompliziertere Färbung des Schnittes zur Sichtbarmachung seiner Details. Diese Färbemethoden soll der Abschnitt VI umfassen.

Da nun diese Farbmethoden wichtige Resultate gezeitigt haben und so ihr Ausbau in unseren Tagen ein besonders hoher geworden ist, soll hier noch einiges über die theoretisch wichtigsten Punkte bei den Farbungsprozessen etc. gesagt werden.

* * *

Farben und Färben: Auf die Geschichte der Übertragung der uralten Färbungsmethoden der Gewebe in der Textilindustrie auf tierische und menschliche Gewebe, d. h. in die Histologie, wollen wir hier nicht eingehen. Betonen wollen wir aber doch als Ausgangspunkt dieser Geschichte das unvergessene Verdienst *Gerlachs*. War das Karmin als erster histologisch gebrauchter Farbstoff schon zum Färben tierischer Gewebe 1851 von *Corti* verwandt worden, so datiert seine grundsätzliche Anwendung als Kernfarbstoff und somit eben als Grundlage jeder zielbewußten histologischen Färbemethodik doch auf der Entdeckung und Einführung *Gerlachs* aus dem Jahre 1858. Seitdem tritt dem Karmin der andere natürliche Farbstoff zur Kernfärbnng, das Hämatoxylin, zur Seite, und ganz besonders haben seit dem Ausbau der industriellen Anilinfarbenherstellung die Anilinfarben (Teerfarben), ganz besonders auch durch die Verdienste *Karl Weigerts*, ihren siegreichen Einzug in unsere Färbetechnik gehalten. Hierdurch war früher ungeahnten Möglichkeiten und Variationen der Boden geebnet. Unter den Erfindern spezieller Methoden dürfen wir den Altmeister der Färbetechnik *Karl Weigert* und als unübertroffenen Forscher auf dem Gebiete der Färbetechnik des Blutes und auch als Theoretiker *Ehrlich* nennen.

Über das eigentliche Wesen des Färbeprozesses sind die Meinungen geteilt. Es stehen sich die Ansichten gegenüber: einmal daß es sich um eine wirkliche, wasserunlösliche chemische Verbindung zwischen der Substanz der Gewebsfaser und der des Farbstoffes handle, eine Auffassung, für welche vor allem z. B. *Knecht, Ehrlich, Niecki, Haidenhain* eintraten. Auf der anderen Seite wird der Färbevorgang als nur auf physikalischen Kräften beruhend, also mechanisch erklärt; es beruht dann die Färbung auf der Oberflächenspannung, d. h. der Kohäsion, wozu bei der Annäherung anderer Stoffe an die Oberfläche die Adhäsion tritt. Die physikalische Auffassung vertraten z. B. *Gierke, A. Fischer, Rawitz, Spiro* etc. Viele Anhänger hat die von *O. N. Witt* aufgestellte Vermittlungstheorie, die sogenannte Theorie der „starren Lösung" gefunden. Die Farbstoffe sollen sich im festen Gewebe so wie in flüssigen Medien lösen: wie man die Farben aus wässerigen Lösungen mit Hilfe von Alkalien oder Äther ausschütteln kann, so sollen die Gewebe die Farben aus ihren wässerigen Lösungen durch dialytische Wirkungen aufnehmen. Ist die Löslichkeit des Farbstoffes in der Faser bedeutend größer als in der Flüssigkeit des Farbbades, so werden naturgemäß osmotisch mehr Farbstoffmoleküle aus der Flüssigkeit in die Gewebsfaser wandern als umgekehrt, d. h. die Faser färbt sich, und zwar mehr oder weniger waschecht. Die gefärbte Faser stellt somit eine „starre

Lösung" des Farbstoffes in der Gewebsfasersubstanz dar. Der Färbeprozeß ist also ein chemischer Vorgang, denn es handelt sich um eine chemische Verbindung, welche aber nicht den Molekulargewichten der Substanz folgt, sondern von schwankenden Verhältnissen, welche ganz so wie bei Lösungen im allgemeinen herrschen, abhängt. Doch sei nicht verschwiegen, daß auch gegen diese Auffassung von *Heidenhain* und *Michaelis* (welcher sie nur bei der Fettfärbung zu Recht bestehen läßt) Einwände erhoben worden sind. Wegen aller Details sei auf den Grundriß der Farbchemie von *Pappenheim*, das vorzügliche Werk von *Gustav Mann* und die Artikel in der „Enzyklopädie" aus den Federn von *N. O. Witt*, *Heidenhain* und *Michaelis* (Färbung und Färbungen) verwiesen.

So unklar die zureichende Erklärung für den Färbeprozeß im allgemeinen ist, so sicher wissen wir heute, daß die tierischen Gewebe ihre bestimmten Affinitäten für Farben und besonders Anilinfarben besitzen, und daß diese Affinitäten unter verschiedenen Bedingungen wechseln, an sich verschieden sind und in verschiedener Intensität auftreten. Bei dem Färbeprozeß können wir ebenso wie in der Textilfärbung auch in der Histologie zwei Hauptformen unterscheiden. Einmal die substantive oder direkte Färbung und sodann die adjektive oder indirekte. Bei der ersteren bewirkt die Farblösung direkt eine Färbung der Gewebsfaser; bei der zweiten Gruppe muß eine dritte Substanz mitwirken, um die Verbindung zwischen Farbstoff und Gewebsfaser herzustellen. Wir bezeichnen diese Substanz als Beize. Die Verbindung zwischen Beize und Farbstoff wird Lack genannt. (In englischen Arbeiten wird unter Lack häufiger nur die Vereinigung einer basischen Beize mit einer sauren Farbe verstanden.) Ein solcher Lack muß, um in der Histologie brauchbar zu sein, eine feste Verbindung mit dem Gewebe eingehen. In der Praxis kann man nun die Schnitte entweder zuerst beizen und sie dann in der Farbflüssigkeit färben, oder man kann Beize und Farblösung mischen und sie somit gleichzeitig auf das Gewebe einwirken lassen.

Nun stellen zahlreiche Fixierungsflüssigkeiten an sich schon eine Beize dar, was nach *Heidenhain* darauf beruht, daß die Beizwirkung, zum großen Teil wenigstens, in der Präcipitation von Eiweiß besteht, ein Vorgang, der ja bei der Fixierung statthat. Auch *Michaelis* betont, daß solche Körper, welche Eiweiß aus Lösungen chemisch ausfällen, allein als Beizen dienen können und daß deswegen eben manche unserer Fixiermittel als Beizen wirken; es ist dies z. B. bei der Chromsäure und den Chromsäuregemischen in erheblichem Maße der Fall, und die starke Beizung der *Müller*schen Flüssigkeit stellt dadurch einen besonderen Vorzug dar, daß, wie auch *Michaelis* betont, das Chromoxyd nach allen Richtungen hin als Beize dienen kann, indem es bald als Base, bald als Säure fungiert. Des weiteren kommen besonders Metallsalze in Betracht, so z. B. Eisen oder Kupfer für das Hämatoxylin. Anilinfarben dienen auch als Beizen untereinander und man kann als allgemein gültigen Satz den aufstellen, daß saure Beizen zur Lackbildung mit einem basischen Farbstoff, basische

Beizen für saure Farbstoffe geeignet sind, und daß manche saure Anilinfarben auch als Beize für nachfolgende basische wirken.

Ganz vereinzelt werden Beizen nicht zur Herstellung von Färbungen sondern zur Verhinderung solcher verwandt; ein klassisches Beispiel ist die *Marchi*sche Färbung. Während ebenso wie die Fette sich auch die gesunden Markscheiden mit Osmiumsäure schwärzen und somit keine Unterscheidung zulassen, verlieren die Markscheiden nach Behandlung mit Kaliumbichromat diese Eigenschaft, während das Fett, welches sie behält, jetzt allein gefärbt wird und somit in die Erscheinung tritt. Hier wirkt also das Kaliumbichromat als Beize, aber als verhindernde Beize.

Bei der Anwendung von Farblösungen kann man ganz allgemein zwei Methoden unterscheiden:

1. Die *progressive Methode*. Bei ihr wird eine Farblösung solange verwandt, bis die mit bestimmter Affinität zur Farbe begabten Bestandteile, welche also gefärbt werden sollen, gefärbt sind, andere nicht. Jetzt wird die Färbung abgebrochen.

2. Die *regressive Methode*. Hier werden die Gewebe gemeinsam überfärbt, und nun wird mit Chemikalien wieder ausgezogen, so daß die Farbe nur noch an den mit der größten Affinität zu ihr begabten Strukturelementen haftet. Wir bezeichnen diesen Vorgang als *Differenzierung*. Er wird unterbrochen, wenn nur noch die gefärbt gewünschten Bestandteile gefärbt sind. Als Differenzierungsmittel kommen vor allem Alkohol, Salzsäurealkohol, andere Säuren, darunter auch saure Farbstoffe, Anilinöl, Anilinxylol, Borax-ferricyankaliumlösung etc. in Betracht. Im allgemeinen kann man als Grundsatz aufstellen, daß, je schwerer sich Strukturelemente färben lassen, sie desto fester auch die einmal aufgenommene Farbe zurückhalten. Hierauf beruht ja die Tuberkelbazillenfärbung.

Während die progressive Methode naturgemäß den Vorteil der Einfachheit hat und den größerer Objektivität gegenüber der regressiven Methode, bei welcher häufig die Ergebnisse ganz von der Dauer der Einwirkung des Differenzierungsmittels abhängen, so daß bei ganz diffizilen Färbungen sogar ständige Kontrolle der Differenzierung unter dem Mikroskop vonnöten ist, um die Differenzierung an dem richtigen Zeitpunkte zu unterbrechen, erlaubt doch die regressive Methode mehr gewünschte Variationen, und bei feineren Detailfärbungen kommen wir ohne sie nicht aus. So basieren denn auf ihr fast alle komplizierteren spezifischen Methoden.

Wie aus dem Vorhergegangenen schon hervorgeht, kann man einmal eine *diffuse* Färbung und sodann eine *differentielle* unterscheiden; ein Teil der Färbungen ist für bestimmte Bestandteile *spezifisch*. Da aber meist nicht nur *ein* Strukturelement von den bestimmten Farben gefärbt wird, braucht man hier im allgemeinen nicht an Spezifizität sensu strictiori zu denken, sondern man kann eine Färbung als spezifisch bezeichnen, wenn nichts mitgefärbt wird, was mit dem in Frage stehenden Strukturelement der Form nach verwechselt werden könnte. Es ergibt sich hieraus schon die überaus wichtige allgemeine Folgerung, sich niemals auf

Färbung allein zu verlassen, sondern ebenso grundlegend auch stets die Form in Betracht zu ziehen. Wird aber wirklich ein bestimmter Bestandteil von bestimmter chemischer Konstitution allein färberisch dargestellt, so können wir von einer elektiven Färbung sprechen. Es ist dies meist dann der Fall, wenn die Färbung nicht nur zur besseren Sichtbarmachung der Strukturdetails dienen soll, sondern es sich direkt um mikrochemische Reaktion, meist der chemischen im Reagengzlas nachgebildet, handelt, und somit in diesen Fällen eine Art qualitative und bis zu einem gewissen Grad sogar schätzungsweise quantitative Analyse auf bestimmte Stoffe mikrochemisch zur Verfügung steht. Hier kommen außer den Elementen, bei denen, wie beim Eisen, diese mikrochemische Betrachtung am nächsten liegt, höher organisierte Substanzen wie Harnsäure und Glykogen in Betracht; doch gibt es nur relativ wenige solche mikrochemische Reaktionen und somit wirklich elektive Färbungen.

Es ergibt sich auch schon aus dem oben Gesagten, daß wir mehrere verschiedene Strukturelemente in demselben Präparate verschieden färben können. In besonders glücklicher Weise stehen wir hier den Hauptbestandteilen der Gewebe überhaupt, Kern und Protoplasma, gegenüber, indem wir nach den grundlegenden Auseinandersetzungen *Ehrlichs* wissen, daß basische Farbstoffe besondere Affinität zu den Zellkernen, saure solche zu dem Protoplasma besitzen, so daß differentielle Färbungen hier leicht möglich und überaus zahlreiche Variationen gegeben sind, von welchen unten im ersten Teil des Abschnittes „Färbungen“ eine Reihe wiedergegeben werden soll. Sind so verschiedene Strukturelemente in demselben Präparate gefärbt, so sprechen wir von Mehrfachfärbung, und man kann diese wieder einteilen in Doppelfärbungen und Vielfachfärbungen. Erstere sind in der Regel der klareren Bilder wegen vorzuziehen. Man kann die verschiedenen Farben gleichzeitig als sogenannte Farbstoffmischungen einwirken lassen, wie z. B. die *van Gieson*-Lösung eine vorzügliche solche darstellt, oder aber man wendet die Farblösungen nacheinander (sukzedan) an. In der Regel ist das letztere vorzuziehen; doch feiern besonders in der Bluttechnik simultane Mehrfachfärbungen besonders auch unter Benutzung der bei Mischungen entstehenden Neutralstoffe (s. unten) ihre Triumphe. Handelt es sich um spezifische Färbungen, so schickt man besser die mehr allgemein färbende Lösung, z. B. die Kernfarbe, voraus und verwendet die spezifisch färbende nachher, um so ihren Effekt besser kontrollieren zu können und in der Hand zu haben.

Aus dem Gesagten geht hervor, wie überaus wichtig die allgemeine Einteilung in basische und saure Farbstoffe ist. Nun kommt noch in Betracht, daß bei der Vereinigung beider sich zuweilen Neutralfarbstoffe bilden, welche auch besondere Affinität zu Strukturelementen aufweisen und besonders in der Bluttechnik von größter Wichtigkeit geworden sind. Nicht nur kann man mit den sauren, basischen und neutralen Farbstoffen bestimmte Strukturelemente spezifisch färben, sondern auch umgekehrt kann man aus der Art der Reaktion, d. h. der Färbung,

wichtige Schlüsse auf die chemische Zusammensetzung der einzelnen Gewebselemente selbst ziehen.

Noch erwähnenswert ist die besonders von *M. Heidenhain* betonte Methode der sogenannten systematischen Präokkupation oder substraktiven Tinktion. Hierbei läßt man zunächst eine Farblösung einwirken, welche Affinität zu den anderen Strukturelementen des Schnittes, aber nicht zu dem zu färbenden besitzt. Färbt man nun mit einer Farblösung nach, welche Affinität gerade zu diesem aufweist, so kann man mit ihr stark überfärben und differenzieren, wobei dann die mit der ersten Farbe präokkupierten anderen Bestandteile die zweite Farbe wieder leicht abgeben, diese aber an dem zu färbenden Strukturelement, und nunmehr nur an ihm, haften bleibt.

Es gibt nun auch Fälle, in welchen eine einfache Farbstofflösung bei ihrer Anwendung die Gewebe im allgemeinen in ihrer eigenen Farbe färbt, gewisse Bestandteile aber eine andere Farbe annehmen und so hervortreten. Es handelt sich hier um den sogenannten Farbumschlag, Metachromasie (*Ehrlich*), welche besonders bei der Darstellung von Amyloid, Schleim, Mastzellengranula etc. sehr wichtig ist. Im allgemeinen beruht diese Metachromasie auf optischen Gründen; zuweilen aber wird sie nur vorgetäuscht, indem der Farbstofflösung doch noch andere Farbstoffe gewissermaßen als Verunreinigung beigemischt sind, für welche nun einige Gewebsbestandteile besondere Affinität bekunden. Das ist besonders häufig bei Methylenblau der Fall. Es kann sich hier also — und ähnlich bei Methylgrün etc. — um unfreiwillige Anwendung eines Farbstoffgemisches handeln.

Während man im allgemeinen erst die Schnitte färbt, gibt es auch eine Methode, bei welcher die Stücke en bloc durchgefärbt werden; dies war früher üblicher wie jetzt und findet in der normalen Anatomie mehr Anwendung als in der pathologischen. Für solche Durchfärbung größerer Stücke kommen Anilinfarben weniger in Betracht als die sogenannten natürlichen, vor allem bestimmte Karminlösungen wie Alaunkarmin, Boraxkarmin, oder Hämatoxylinlösungen wie das Alaunhämatoxylin. Im ganzen ist diese Methode, welche ja allerdings eine bedeutende Vereinfachung darstellt, nicht zu empfehlen. Einmal handelt es sich hier nur um einfache Kernfärbungen, und solche sind in der Regel nicht ausreichend, nimmt man aber Nachfärbungen vor, so kann man auch ohne großen Zeitverlust die kleine Mühe der Kernfärbung noch am Schnitt ausführen. Andererseits sind die en bloc-Färbungen lange nicht so sicher als die Schnittfärbungen und versagen bei feineren Methoden ja überhaupt. Endlich ist bei der en bloc-Färbung der Weg gebunden, während man bei der Schnittfärbung nach der Färbung einiger Schnitte die anderen noch allen möglichen Methoden unterwerfen kann, und gerade diese Kombination verschiedenster Methoden sehr häufig erst zum Ziele führt.

Bei den bisherigen Färbemethoden war das tote Objekt Voraussetzung; man kann aber auch im lebenden oder überlebenden Zustande Färbungen ausführen, und da dies gerade für physiologische Zwecke von

Bedeutung sein kann, soll hier noch etwas darauf eingegangen werden. Diese vitale oder supravitale Färbung hat ihre Hauptobjekte in den Fällen, in welchen Fixation nicht mit Bestimmtheit ausschließen läßt, daß es sich bei den gefärbten Substanzen um Kunstprodukte handelt. Es ist nun eine Tatsache, daß sich bestimmte Bestandteile der Zelle schon im lebenden Zustande mit manchen Farbstoffen darstellen lassen, und man kann dann derartige Gebilde mit Bestimmtheit schon in der lebenden Zelle als wenigstens präformiert ansehen. Es handelt sich hier im wesentlichen um die sogenannten Zellgranula, und ihre Kenntnis hat nicht wenig zu unseren Vorstellungen von der Zellorganisation beigetragen. Die Übereinstimmung der sich dann ergebenden Bilder mit solchen im gehärteten, gefärbten Objekt trägt wesentlich zur Beweiskraft der letzteren bei. Insbesondere ist hier an die sich vital färbenden Granulationen und ihre Übereinstimmung mit den von *Altmann* besonders betonten und mit Hilfe komplizierter Methoden von ihm dargestellten Granula zu denken. Auf diesem Gebiete sind die Untersuchungen von *Arnold* auch aus den letzten Jahren noch von besonderer Bedeutung. Des weiteren feiert die hier in Frage stehende Methode in der Darstellung von Nervenelementen, hier zuerst von *Ehrlich* eingeführt (Methylenblau), besondere Triumphe. Auch für die Funktion der Zellen ist diese Methode insofern von Bedeutung geworden, als funktioneller Wechsel in der Färbbarkeit von Zellbestandteilen einen funktionellen Strukturwechsel besonders in den Forschungen *Fischels* und *Arnolds* erwiesen. Endlich können wir mit Hilfe solcher vitalen Färbungen wichtige Rückschlüsse gerade auf Leben oder Tod von Zellen ziehen, denn es läßt sich als allgemeiner Grundsatz aufstellen, daß bei lebenden Zellen nur bestimmte Granula etc., also Protoplasmabestandteile die Farbe aufnehmen, die Kerne aber, ganz besonders auch bei Anwendung von Farblösungen, mit denen sie sich sonst gut färben, wie Methylenblau, ungefärbt bleiben, und erst wenn die Zelle abstirbt oder tot ist auch der Kern, oder gerade dieser, die Farbe aufnimmt. Man kann dies direkt als Indikator des Absterbens ansehen. Andererseits verträgt sich, wie *Fischel* betonte, intravitale Färbung selbst mit Weiterentwicklung von Eiern und Embryonen, mit dem Ablauf von Mitosen etc.

In einer Anwendung stellt die vitale Färbung überhaupt die älteste Färbung tierischer Gewebe dar. *Fischel* erinnert mit Recht daran, daß auf ihr schon die fast bei allen Naturvölkern ausgebildeten Körperbemalungen basieren, und besonders war die Eigenschaft des Krapps, wachsende Knochen rot zu färben, schon im 16. Jahrhundert bekannt.

Nicht nur kann man die Farbstoffe direkt von den Zellen aufnehmen, sondern man kann hierbei auch noch die Zellen eine eigene chemische Umwandlung der Farbstoffe vornehmen lassen. Es handelt sich hier vor allem um Reduktion und Oxydation, was man bei mancherlei Farbstoffen an Entfärbungen (Leukovorstufen des Farbstoffes) und an Farbumschlägen feststellen kann. So wurden ja die grundlegenden Untersuchungen *Ehrlichs* über das Sauerstoffbedürfnis des Organismus auch

mit Hilfe eines Farbstoffes, des in seinen verschiedenen Oxydationsstufen so verschiedenen Indophenols, durchgeführt.

Als Farbstoffe werden zumeist das Methylenblau, Bismarckbraun, Neutralrot, eventuell Nilblau verwandt. Man muß sehr verdünnte Lösungen besonders bei Methylenblau, z. B. 1 : 1.000.000, anwenden. Am besten nimmt man die Färbung im Dunkeln vor. Nach *Fischel* beruht dies darauf, daß man den ungünstigen Einfluß des diffusen Tageslichtes seiner physikalisch aktiveren, kurzwelligen Strahlen wegen besser vermeidet. Nur basische Farbstoffe sind anwendbar (doch verwendete *Goldmann* auch saure, wie Isanamin und Trypanblau), und zwar nach *Fischel* solche Farbstoffe, welche die Amidogruppe NH_2 enthalten, oder solche, in welchen „der Wasserstoff durch ein der fetten Reihe angehöriges Alkoholradikal (Methyl oder Äthyl) vertreten ist“. Zur Erklärung der vitalen Färbung ist Diffusion auf jeden Fall in hohem Grade heranzuziehen, doch sind die Verhältnisse sehr kompliziert, denn zu den physikalischen Bedingungen kommen mit Sicherheit solche chemischer Natur. Nach *Overton* spielen die Lipoide des Zellprotoplasmas eine Hauptrolle, wofür *Heidenhain* sichere Anhaltspunkte noch nicht gegeben sieht.

Man nimmt die vitalen Färbungen vor, indem man die Farbstofflösungen in den Körper einbringt, und zwar durch Aufnahme auf dem Verdauungsweg, oder durch Injektionen, oder indem man kleine Tiere ganz in die Lösung einbringt.

Zur Einübung der Methode werden am besten nach *Fischel* Amphibienlarven oder nach *Arnold* die Zunge eines kurarisierten Frosches verwandt. Der letztgenannte Autor empfiehlt auch die Cornea des Frosches als Beobachtungsobjekt.

Neben der wirklichen vitalen Färbung kommt für höhere Tiere, eventuell den Menschen, besonders die supravitale, die sogenannte Färbung am überlebenden Objekt, in Betracht. Man muß dann naturgemäß möglichst schnell und frühzeitig, um postmortale Veränderungen zu vermeiden, das betreffende Gewebe herausschneiden und untersuchen. Färbung des Kernes zeigt dann meist den Beginn eines wirklich toten Zustandes an. Diese supravitale Methode feiert im Nervensystem in der *Ehrlich*schen Methylenblaumethode ihre Hauptnutzanwendung. Sehr ausgedehnt sind die Versuche gewesen, derartige, vor allem Methylenblaufärbungen zu fixieren; besonders *Bethe*, *Mayer*, *Dogiel* haben in dieser Richtung ausgedehnte Versuche unternommen. Jodjodkalium, Pikrinsäureammoniak, Ammoniummolybdat sind verwendet worden, ohne daß hier der Ort wäre, auf Einzelheiten einzugehen.

Auch für Bakterien sind Vitalfärbungen, wobei die lebenden Bakterien Farbstoffe selbst aufnehmen, angegeben worden, so von *Plato* und besonders von *Nakanishi-Pappenheim*. Ähnliche Methoden werden auch zur Darstellung von Leukozytengranula verwendet.

Unter Umständen ist auch folgende Methode *Arnolds* empfehlenswert. Man schneidet mittelst des Mikrotoms feine Plättchen von getrocknetem

Holundermark (fertig zu beziehen bei *Jung*, Heidelberg), welche durch Kochen in Kochsalzlösung sterilisiert werden. Ein Holunderplättchen wird nun mittelst Vaselin auf dem Deckgläschen befestigt: oben auf das Holundermarkplättchen bringt man einen Tropfen der Farbflüssigkeit mit den zu untersuchenden Zellen und legt nun das Deckgläschen mit dem Holundermarkplättchen etc. auf einen hohlgeschliffenen Objektträger. Auch bringt man Holundermarkplättchen oder Glaskammern in Tiere ein, z. B. in den Peritonealraum, und kann nun die eingewanderten oder eingewucherten Zellen frisch oder auch nach Fixation und Färbung studieren; auch durchlöcherte Celloidinstückchen sind hierzu gut zu verwenden.

Als allgemeine Regeln bei der Herstellung von Farblösungen und bei deren Einwirkung lassen sich noch folgende Hauptpunkte kurz anführen:

1. Man verwende nur ganz reine Farbstoffe und beziehe sie am besten von Dr. *Grübler*, Leipzig, der anerkanntesten Zentrale für alle Farbstoffe und auch kompliziertere Farblösungen, wie sie in der Histologie üblich sind.

2. Die zu verwendenden Gefäße müssen sorgfältigst gereinigt sein.

3. Man verwende stets destilliertes Wasser.

4. In der Regel müssen die Lösungen filtriert werden, nur bei einigen speziellen Vorschriften ist dies verboten; auch muß man sich zuweilen vor Umschütteln der Farblösungen hüten.

5. Um die Lösungen keimfrei zu halten, setzt man soweit angängig ganz kleine Mengen antiseptischer Substanzen, wie Kristalle von Karbolsäure, Thymol etc. zu.

6. Manche Lösungen müssen im Dunkeln gehalten werden, da sie im Tageslicht unbrauchbar werden. Manche spezielle Farblösungen haben auch nur eine beschränkte Dauer ihrer Farbfähigkeit, so verlieren manche diese nach einiger Zeit, während andere, wie die Hämatoxylinlösungen, erst oxydieren müssen, was man als „reifen" bezeichnet.

7. Die Intensität des Färbeprozesses kann erhöht werden

a) durch lange Einwirkung der Farblösung;
b) durch Erhöhung ihrer Konzentration;
c) durch Anwendung höherer Temperaturen (nicht über 50°);
d) durch Zusatz mancher Substanzen, z. B. Anilinöl.

8. Die Schnitte müssen in der Farbflüssigkeit gut ausgebreitet sein; man nehme also nicht zu kleine Gefäße, vor allem in der Regel nicht die auch sonst unpraktischen, aber vielfach sehr beliebten Uhrschälchen. Auch muß man reichlich Farbflüssigkeit verwenden. Breiten sich die Schnitte nicht gut aus, so kann man sie manchmal durch Erzeugung von Diffusionsströmen, indem man aus höher konzentriertem Alkohol in dünneren oder aus solchem in Wasser überträgt, glätten; doch ist Zerreißen der Schnitte hierbei sorgfältig zu vermeiden.

9. Zur Differenzierung verwandte Flüssigkeiten, wie vor allem auch das Anilinöl oder Säuren, müssen durch folgendes Auswaschen der Schnitte

gründlich entfernt werden, um nicht noch nachträglich die Schnitte unerwünscht zu differenzieren und somit abblassen zu lassen.

10. Trotz aller Vorsicht blassen doch Färbungen später vielfach ab, so z. B. das Rot der *van Gieson*-Lösung oder Methylenblaufärbungen; solches Ausziehen von Farbe kann vielfach durch Anwendung neutralen Kanadabalsams vermieden werden. Besonders lichtempfindliche Färbungen werden dadurch besser erhalten, daß man die Präparate nach Fertigstellung sofort ins Dunkle legt, z. B. in Mappen, und sie hier aufbewahrt.

Was nun die einzelnen in der Histologie hauptsächlich verwendbaren Farbstoffe betrifft, so sei wegen aller Details auf die ausführlichen Bücher von *Pappenheim* (Grundriß der Farbchemie), *Michaelis* (Farbstoffchemie), *Gustav Mann* (Physiological Histology), *Lee* und *Mayer* (Grundzüge der mikroskopischen Technik) verwiesen. Hier will ich nur eine ganz kurze Zusammenstellung, so wie ich sie in meiner Technik vorgenommen habe, wiedergeben.

1. Natürliche Farbstoffe:

Hämatoxylin, Brazilin, Karmin, Alkanin, Orcëin, Litmus, Purpurin, Alizarin etc.

Hämatoxylin ($C_{16}H_{14}O_6$) wird aus dem Blauholz, Kampeschuholz (Haematoxylon Kampeschuanum), welches in Domingo, Haiti, Jamaika etc. wächst, durch Ausziehen mittelst Äther gewonnen. Seine Konstitution ist von *Perkin* und *Yates* ermittelt worden. Es besteht aus einem Pyrogallusradikal in Verbindung mit Brenzkatechin. Hämatoxylin ist als solches kein Farbstoff, sondern ein sogenanntes Leukoprodukt, und es wird erst zum Farbstoff in höheren Oxydationsstufen, nämlich im sogenannten Hämatein ($C_{16}H_{12}O_6$) und in noch höheren Oxydationsstufen. Auch diese Farbstoffe färben Gewebe nicht direkt, sondern sie benötigen zur Färbung einer Beize, gehören also zu den sogenannten indirekten oder adjektiven Färbemitteln. Als Beize kommen hier hauptsächlich Alaun, Chrom, Kupfer, Eisen und Vanadium, mit denen die Farbstoffe Lacke bilden, in Betracht.

Dem Hämatoxylin sehr ähnlich ist das Brazilin ($C_{16}H_{14}O_5$).

Karmin wird aus dem weiblichen Kokkus (Cacti Coccinellifera) gewonnen. Es enthält stickstoffhaltige Substanzen (etwa 20%), Kalk (3%) und Alaun (3%), sodann als Hauptbestandteil die Farbsäure, die sogenannte Karminsäure (etwa 56%), Wasser etwa 17%. *Liebermann* hat die Konstitution der Karminsäure als $C_{22}H_{22}O_{13}$ angegeben und rechnet sie zu den den Oxychinonen verwandten Körpern, doch ist die Konstitution der Karminsäure nicht mit Sicherheit ermittelt.

Dem Karmin steht die Cochenille sehr nahe. Ihr Auszug enthält karminsaures Alkali.

2. Anilinfarben. Sie leiten sich alle vom Benzol C_6H_6 ab. (Bildlich als [Sechseck] = Benzolring, dargestellt.)

Alle Farben besitzen eine oder mehrere Gruppen, welche dem Gesamtmolekül den Charakter der Farbe geben. Man nennt sie Chromophore (*Witt*). Als bestes Beispiel dient die Pikrinsäure = Trinitrophenol. Hier sind im Phenol (Benzolring mit Ersatz eines H durch OH = $C_6H_5 - OH$) 3 H durch Nitrogruppen = NO_2 ersetzt, also = $C_6H_2(NO_2)_3 - OH$. Die Nitrogruppen dienen hier als chromophore Gruppen und der Gesamtkörper wird zu der gelben Farbe. Ersetzt man die 3 NO_2-Gruppen durch 3 NH_2 (Amido)-Gruppen, so ist der Körper keine Farbe mehr, ein Beweis, daß die NO_2-Gruppen in der Pikrinsäure in der Tat die chromophoren Gruppen sind.

a) Saure Anilinfarben:

Säurefuchsin ist das Natriumsalz der Rosanilindisulphosäure.

Eosin ist das Kaliumsalz des Tetrabromfluorescëins.

Erythrosin ist das Natriumsalz des Tetrajodfluorescëins.

Orange G ist das Natriumsalz des disulphosauren Benzol-Azo-β-Naphthols.

Sudan III ist Azobenzol-Azo-β-Naphthol.

Scharlach R. (Fettponceau) ist Azo-Orto-Toluol-Azo-β-Naphthol (enthält 2 CH_3-Gruppen mehr als das Sudan III).

Pikrinsäure ist Trinitrophenol =

OH

O_2N ⁄ ＼ NO_2

$(C_6H_2(NO_2)_3 - OH) =$

＼

NO_2

Aurantia ist Hexanitro-dyphenylamin

$$= NH_4 - N\begin{matrix} C_6H_2(NO_2)_3 \\ C_6H_2(NO_2)_3 \end{matrix}$$

b) Basische Anilinfarben.

Methylenblau, Thionin, Toluidinblau, Methylenviolett (das letztere ist in dem sogenannten polychromen Methylenblau enthalten) gehören zu den Thio-Diphenyl-Aminen oder Thiazinen. Sie enthalten alle Schwefel. Am einfachsten konstituiert von diesen Substanzen ist das Thionin oder *Lauth*sche Violett, welches ein Diamido-Diphenyl-Amin (oder Amido-Diphenyl-Thiazin) darstellt. 4 Methylgruppen (CH_3) mehr enthält das Methylenblau.

Fuchsin, auch Rosanilin, Rubin, Anilinrot, Magenta genannt, ist ein Methyl-Triamido-Triphenyl-Karbinol. Meist wird salzsaures Rosanilin verwandt.

Methylviolett gehört zu derselben Gruppe wie das Fuchsin. Es ist eine Mischung von Tetra-Penta und Hexa-Methyl-Para-Rosanilin.

Gentianaviolett und Kristallviolett sind ebenfalls Pararosaniline. Das erstere ist eine Mischung der Chloride des Penta- und Hexa-Methyl-Para-Rosanilins.

Dahlia ist eine Mischung des Methylvioletts und des Fuchsins.

Anilinblau ist Triphenyl-Rosanilin.

Safranin ist das Amido-Derivat einer Azoniumbase.

Bismarckbraun und Vesuvin gehören zu den Azo-Körpern und stellen Triamido-Azo-Benzol dar. Das käufliche Salz ist meist das salzsaure Salz des Diazo-Körpers.

Abschnitt I: Untersuchung frischer Präparate.

Die frische Untersuchung kommt naturgemäß beim lebenden Objekt, des weiteren bei solchen Stoffen, welche bei Einbettung, Färbung etc. verloren gehen oder weniger deutlich werden, und endlich vor allem zur schnellen Diagnose, wo es auf feinere Schnitte nicht ankommt, in Betracht. Sind letztere nötig oder müssen bestimmte Strukturdetails der Gewebe deutlicher hervorgehoben werden, so versagt diese einfachste, aber deswegen bei weitem nicht leichteste, ja für den Ungeübten sogar meist mit größeren Schwierigkeiten verbundene Methode. Besonders wichtig ist die Kombination der frischen Untersuchung mit der am eingebetteten Objekt: erst jene, dann diese.

Die frische Untersuchung ist die naturgemäße bei allen Flüssigkeiten, Sekreten, Exkreten etc. Unter Umständen muß man die Flüssigkeit verdünnen, öfters aber erst sedimentieren lassen oder zentrifugieren.

Zur Untersuchung fester Objekte kann man entweder auf den Zusammenhang der Gewebe verzichten und Zellen isolieren, und zwar mittels der sogenannten Abstrichmethode, indem man mit einem Skalpell die frische Schnittfläche eines Gewebestückchens bestreicht, was besonders bei Milz, Leber etc. angängig ist, oder mit der Quetschmethode zwischen zwei Objektträgern oder Deckgläschen, oder mittels der Zupfmethode, indem man ein kleines Gewebsfetzchen auf dem Objektträger in einer Flüssigkeit immer mehr und mehr zerzupft, eventuell mit Zuhilfenahme einer Stativpräparierlupe; oder man kann auch Schnittpräparate mit Hilfe der gebogenen Schere, z. B. bei Untersuchung der Echinokokkusmembran, oder mit Hilfe eines Rasiermessers, wobei man das zu schneidende Stück vorteilhaft in ein Stück gehärtete Amyloidleber einklemmt, oder mit Hilfe der heute weniger gebrauchten Doppelmesser anfertigen. Das Gefriermikrotom ist auch verwendbar, aber hierbei wird besser vorgehärtet (s. nächstes Kapitel). Auspinseln und Ausschütteln wird heute weniger verwandt. Zum Rasiermesserschneiden gehört, um gute Schnitte anzufertigen, größere Übung, welche auch heute weniger angetroffen wird.

Bei der Zupfmethode kann man, um die Isolation der Zellen zu erleichtern, sogenannte Mazerationsflüssigkeiten anwenden. Als solche dienen vor allem *Ranvier*'s 33%iger Alkohol (sogenannter Drittelalkohol), Chromsäure oder *Müller*'sche Flüssigkeit, am besten ganz dünne Lösungen, z. B. 0·02%ige der Chromsäure oder 0·1—2% von Kalium bichromicum, des weiteren Kalilauge (33%ige). Während die beiden erstgenannten Flüssigkeiten einen oder zwei Tage im Uhrschälchen oder dgl. verwendet

werden, läßt man die Kalilauge nur ½—1 Stunde einwirken und untersucht dann auch in der Kalilauge selbst, da Wasserzusatz verdünntere Kalilauge herstellen, d. h. die Zellen lösen würde. Jodjodkaliumlösung und endlich die Verdauungsmethode mit Magen- oder Pankreassaft bei 37°, besonders Pepsin- und Trypsinverdauung, sind noch zu erwähnen. Das Trypsin löst Eiweißkörper, Mucin, elastische Fasern; kollagenes Gewebe, Horngewebe, Fette werden nicht angegriffen. (Man kann auch, wie nebenbei erwähnt sei, in Alkohol härten oder sogar einbetten und die Schnitte dann der Verdauung aussetzen.)

Bei der Untersuchung von Flüssigkeiten soll von solchen stets nur ein so kleiner Tropfen auf den Objektträger gebracht und unter das Deckgläschen gebreitet werden, daß der Kapillarspalt zwischen Objektträger und Deckgläschen gerade ausgefüllt ist, die Flüssigkeit zu Seiten des Deckgläschens nicht herausquillt. Auch jeder Druck muß vermieden werden. Werden feste Partikel untersucht, so muß ihnen zunächst eine indifferente Flüssigkeit zugesetzt werden, und zwar ebenfalls nur ein kleines Tröpfchen. Als solche ist in der Regel isotonische Kochsalzlösung, 0·9%ige für Warmblüter, 0·6%ige für Kaltblüter zu empfehlen, da sie wegen ihrer Isotonie das Aufquellen der Gewebe möglichst vermeidet. Man kann auch 9 Teilen der Kochsalzlösung 1 Teil Hühnereiweiß zusetzen oder für ganz feine Unteruchungen sterilisiertes Blutserum, Hydrozelen-, Aszitesflüssigkeit oder dgl. verwenden. Unter Umständen empfiehlt sich die Untersuchung im sogenannten hängenden Tropfen mit Hilfe des hohlgeschliffenen Objektträgers, wie sie in der Bakteriologie üblich ist.

Nach dieser Untersuchung in indifferenter Flüssigkeit ist zumeist bei der Untersuchung frischer Präparate Verwendung bestimmter nicht indifferenter Chemikalien angezeigt. Als solche kommen in Betracht vor allem:

1. Die Essigsäure; in ihr schrumpfen die Kerne etwas und werden somit deutlicher, Bindegewebe quillt und wird daher durchsichtiger und deutlicher, elastisches Fasergewebe wird nicht angegriffen, so daß beide sich leicht unterscheiden lassen; auch Bakterien werden nicht angegriffen. Man verwendet zumeist eine 1—5%ige Lösung oder setzt, wenn schon Flüssigkeit unter dem Deckgläschen ist und man die Essigsäure von der Seite diffundieren läßt, stärkere Lösung zu, da diese ja dann ohnehin weiter verdünnt wird.

2. Kalilauge; sie läßt elastische Fasern, Pigment, Fett, Kalk, Amyloid und Bakterien unverändert und zerstört das meiste übrige, läßt somit die erstgenannten Substanzen deutlicher erkennen. Man verwendet eine 1—3%ige Lösung.

3. Bei speziellen Bedürfnissen können auch noch andere Zuzatzlösungen bestimmte Substanzen leichter erkennen lassen, so zeigt eine 1%ige Osmiumsäure Fette und Lipoide durch Schwarzfärbung, Sudan III- oder Scharlach R.-Lösung dieselben durch Rotfärbung an. Jodlösung, am besten *Lugol*sche Lösung, stellt eine Reaktion für Amyloid, welches sie

mahagonibraun färbt, dar. Eventuell tritt auch mit ihr eine Reaktion auf Glykogen ein, wenn solches nicht schon gelöst ist.

4. Sehr zu empfehlen ist es häufig, eine dünne Farblösung und ganz besonders eine dünne direkt färbende Kernfarbstofflösung zuzusetzen, so daß die Kerne gefärbt, deutlicher in die Erscheinung treten. Hier kommt vor allem Methylenblau, Fuchsin, Neutralrot in Betracht. Man verwendet eine 1%ige Lösung in destilliertem Wasser oder besser in der schon erwähnten Kochsalzlösung. Auch kann man eine Fuchsin-Essigsäurelösung, d. h. eine Essigsäure, der man etwas Fuchsin bis zu kräftiger roter Farbe hinzusetzt, gut verwenden. Wie die Zusatzflüssigkeiten überhaupt, so wendet man auch diese Farblösungen am besten so an, daß man nach Untersuchen in indifferenter Flüssigkeit ein Tröpfchen der Farblösung etc. auf die eine Seite des Deckgläschens setzt und es durch Auflegen von Filtrierpapier auf die andere Seite des Deckgläschens unter dieses hinein ansaugt. Außer den Kernen färben sich auch eventuell schon Bakterien so mit. Bei der Untersuchung von Flüssigkeiten, Urin, Cerebrospinalflüssigkeit etc. erweist sich Zusatz eines kleinen Tröpfchens von Farblösung, besonders Methylenblau, meist als sehr vorteilhaft.

Muß man ein frisches Objekt längere Zeit beobachten, so umrandet man, um Verdunstung zu verhüten, das Deckgläschen mit Vaselin, Wachs, geschmolzenem Paraffin oder Lack.

In der sogenannten feuchten Kammer, welche man sich leicht durch ein Doppelglasschälchen mit Auflegung befeuchteten Filtrierpapiers auf den Boden herstellen kann, können frische Präparate noch einige Zeit vor Austrocknung geschützt erhalten bleiben.

Abschnitt II: Fixation und Härtung.

Zumeist aber ist es nötig, wie schon oben gesagt, die Objekte zu fixieren und zu härten.

Die Fixierung bezweckt Gewebe in dem Zustande zu erhalten, in welchem sie im Leben oder wenigstens zur Zeit des Einlegens in die Flüssigkeit waren und zum mindesten weitere Zersetzungsvorgänge hintanzuhalten. Hieraus erhellt schon die Wichtigkeit frühzeitigen Einlegens, doch soll nicht verschwiegen werden, daß solches auch manche Nachteile mit sich bringt. So gelingen bei lebensfrischem Einlegen manche Färbungen schlechter, und offenbar infolge der sehr schnellen Zerstörung bei der plötzlichen Koagulation sieht man besonders im Protoplasma der Leberzellen bei Fixation in lebenswarmem Zustande besonders bei tierischem Material häufig hochgradigste künstliche Zerstörung.

Die Fixierungsflüssigkeiten wirken als solche durch Koagulation des Eiweißes, d. h. durch Überführen der Eiweißkörper in Verbindungen, welche in Wasser, schwachen Säuren etc. unlösbar sind. Dies wird zumeist auf chemischem Wege, seltener auf physikalischem, durch Kochen oder Gefrieren, erreicht.

Von diesen letzteren Verfahren braucht hier nicht weiter die Rede zu sein; sie werden selten verwendet. Die Kochmethode [illegible]

einige Minuten) dient vor allem zur Fixierung eiweißhaltiger Flüsigkeiten, wie bei Darstellung von Lungenödem, Cysteninhalt, Nierenzylindern etc. Es wird dann in Alkohol nachgehärtet. Die Gefrier- und Austrocknungsmethode ist von *Altmann* zu speziellen Methoden ausgearbeitet worden; man verwendet eine Temperatur von —20° bis —30° im Vakuum über Schwefelsäure. Derartige Objekte können dann infolge ihres Wasserverlustes direkt in Paraffin eingebettet werden; sie sollen hierbei möglichst vollständig unverändert bleiben.

Um so wichtiger ist die Fixierung auf chemischem Wege, d. h. mit Hilfe von Eiweißkoagulierungsflüssigkeiten; hier stehen die verschiedensten zur Verfügung. Im allgemeinen kann man mit *v. Tellyesniczky* sagen, daß diejenigen Flüssigkeiten am besten fixieren, welche zwar sofortigen Tod, auch der tieferen Lagen von Zellen, herbeiführen, aber doch nur langsame Koagulation bewirken und somit Strukturschrumpfungen möglichst vermeiden. Um schnell eindringen zu können, müssen also die Flüssigkeiten auch die Fähigkeit schneller Diffusion besitzen. Von diesem Gesichtspunkte aus ergibt sich schon die Wichtigkeit, kleine Stücke in größeren Flüssigkeitsmengen (mindestens 10mal soviel als das Volumen der Stücke beträgt) zu fixieren. Wärme beschleunigt den Fixierungsprozeß meist; gut ist der Brütschrank zu verwenden. Am besten fixieren die meisten Flüssigkeiten, wenn sie leicht sauer reagieren. Es beruht dies nach *Fischer* auf der alkalischen Reaktion der meisten Gewebe und der somit durch das saure Medium bedingten Koagulationsbeschleunigung; besonders dünne Essigsäure ist zu empfehlen. Sollen große Organe fixiert werden, so empfiehlt sich häufig Formol sofort nach dem Tode in die Gefäße bezw. direkt in den Magen etc. zu injizieren.

Außer der Fixierung ist eine Härtung nötig, d. h. eine Überführung der Gewebe in eine Konsistenz, welche geeignet ist, dünne Schnitte herstellen zu lassen. Zahlreiche Chemikalien fixieren und härten zugleich, so die meist verwendeten, z. B. Formol, Alkohol, chromsaure Salze. Tritt in dem ursprünglichen Fixierungsmittel nicht genügend Härtung ein, so wird in Alkohol nachgehärtet. Dieser wird so wie so, und zwar in steigender Konzentration, verwandt, wenn eingebettet werden soll (Celloidin oder Paraffin), da er zur Wasserentziehung der Gewebe nötig ist. In der Regel muß das erste Fixationsmittel dann erst durch gründliches Wässern entfernt werden, bevor in den nachhärtenden Alkohol eingelegt wird, doch ist dies z. B. beim Formol kaum nötig, bei einigen Methoden nach Chromsäurebehandlung (Beispiel *Weigerts* Markscheidenfärbung) deswegen kontraindiziert, weil hier das Fixationsmittel zugleich als Beize dient (s. oben) und deswegen nicht wieder entfernt werden soll.

Unter den Fixations- und Härtungsmitteln empfehle ich in erster Linie zum allgemeinen Gebrauche das Formol. Während *v. Hansemann* dasselbe fast gänzlich verwirft, ist *Benda* sehr für dasselbe eingetreten. Das Formol hat einen Hauptvorzug, nämlich den, Fette und Lipoide, welche sich ja gerade heutzutage für das gesamte Zellenleben von äußerster

Bedeutung erwiesen haben und bei normal-anatomischen, physiologischen, pathologisch-anatomischen Untersuchungen von gleicher Bedeutung sind, ungelöst zu lassen und sie sehr gut zu fixieren. (Anwendung der Gefriermikrotommethode.) So entfällt einer der Haupteinwände, welchen ehedem, als nur Alkohol verwandt wurde, gegen das Härtungsverfahren überhaupt erhoben wurde, daß nämlich Bestandteile, welche bei frischer Untersuchung zu erkennen sind, unkenntlich werden. Des weiteren fixiert und härtet das Formol gleichzeitig vorzüglich und auch größere Stücke von Geweben besser und schneller als irgend ein anderes Fixationsmittel, und man kann auch, besonders bei öfterem Wechsel, die Stücke relativ lange ohne Schädigung in ihm liegen lassen. Die meisten Methoden gelingen nach Formolhärtung sehr gut, für manche ist sie direkt indiziert (*Bielschowsky*-Färbung). Formolfixierte Stücke schneiden sich direkt mit Hilfe des Gefrierverfahrens oder nach Nachhärtung in Alkohol und Einbettung besonders gut. Auch Blutbestandteile werden fast stets sehr gut konserviert. Des weiteren ist die Formolhärtung im großen Ganzen eine mehr indifferente, so daß sich Beizungen u. dgl. sehr leicht anschließen lassen, was besonders bei bestimmten Methoden für das Nervengewebe von besonderer Wichtigkeit ist. Ein nicht erheblicher Vorteil ist auch die leichte Herstellbarkeit und gute Haltbarkeit, sowie Billigkeit des Formols. Diesen Vorteilen stehen nur geringe Nachteile gegenüber, so einmal daß es, wie aber sämtliche wässerige Flüssigkeiten, nicht verwandt werden kann, wenn es auf Darstellung des Glykogens oder der Harnsäure ankommt, und des weiteren, daß sehr leicht feine braune Niederschläge auftreten, welche störend wirken können.

Aber auch letztere können aus den Schnitten entfernt werden: so empfiehlt *Schridde* Anwendung einer Alkohol-Ammoniaklösung (75%iger Alkohol 200 Teile, 25%ige Ammoniaklösung 1 Teil) 1/2 Stunde lang unter gründlichem Nachwässern, nur leidet die Färbung der Blutkörperchen dann oft. *Verocay* legt die Schnitte in: 1%ige wässerige Kalilauge 1 Teil, 80%igen Alkohol 25 Teile, für 10 Minuten, wäscht dann etwa 5 Minuten aus, bringt sie 5 Minuten in 80%igen Alkohol und dann zurück in Wasser. Gefrierschnitte braucht man nur einige Minuten in 2%ige Kalilauge und dann in Wasser zu legen.

Das käufliche **Formol (Formalin)** — 1893 von *F. Blum* in die histologisch-mikroskopische Technik eingeführt — stellt eine 40%ige Lösung des Formaldehyd (HCOH) dar; verwandt wird von dieser Lösung eine 10%ige Lösung in Wasser. Diese wird von anderen Autoren in Hinblick auf das Formaldehydgas als 4%ige Lösung bezeichnet. Ich gehe lieber von dem käuflichen Formol aus, da in diesem die Formaldehydmenge oft schwankt, und spreche von der zu verwendenden Flüssigkeit als einer 10%igen Formollösung. Man läßt die 10%ige Lösung am besten im Durchschnitt 24 Stunden auf die Stücke einwirken. Das käufliche Formol enthält stets geringe Mengen von Ameisensäure und reagiert somit leicht sauer. Entgegen *Gustav Mann*, welcher die Ameisensäure zu neutralisieren empfiehlt

stellt diese leichte Ansäuerung des Formols sogar einen Vorteil dar (s. oben). *v. Tellyesniczky* setzt sogar je 100 *cm*³ Formol 5 *cm*³ Essigsäure zu.

Unter den Mischungen mit Formol, welche allgemeinen Fixierungszwecken dienen, sei hier nur das außerordentlich empfehlenswerte **Orthsche Gemisch** = käufliches Formol 10 *cm*³, *Müller*sche Flüssigkeit (s. unten) 100 *cm*³ erwähnt. Dieses Gemisch kombiniert vielfach die Vorzüge des Formols mit denen der Chromsäurelösung, fixiert und härtet somit ausgezeichnet. 12—24 Stunden Fixieren, besonders im Brutschrank bei 37°, genügt. Es ist etwas umständlicher anzuwenden wie das Formol, da die Mischung sich nicht gut hält und somit stets neu hergestellt werden muß. Auch muß man nach der Fixation vor dem Schneiden auf dem Gefriermikrotom oder der Nachhärtung in Alkohol zumeist besser als bei einfacher Formolhärtung wässern. Andrerseits mißlingen einige wenige Färbungen nach dieser Fixation leicht, so die *Weigert*sche Fibrinfärbung, doch kann dieser Nachteil durch Oxydation und Reduktion der Schnitte leicht behoben werden. Also auch dies *Orth*sche Gemisch ist als allgemeines Fixations- und Härtungsmittel sehr zu empfehlen.

Während ich so das Formol im allgemeinen für sehr brauchbar halte, sind für manche Einzelfälle andere Lösungen vorzuziehen. Hier soll zunächst der **Alkohol** erwähnt werden. Er ist unbedingt indiziert bei Substanzen wie Harnsäure und Glykogen, die sich in jeder wässerigen Flüssigkeit lösen. Manche Farbmethoden, besonders auch auf feine Granula und Bakterien gelingen nach Alkoholhärtung am besten; des weiteren spart man bei seiner Anwendung, da eine Vorfixation wegfällt und die Gewebe sofort fixiert und gleichzeitig wasserfrei gemacht werden, Zeit, so daß die Schnelleinbettungsmethoden alle sofort Alkohol als Fixations- und Härtungsmittel benutzen. Andererseits tritt nach Alkoholhärtung durch plötzliche Wasserentziehung der Gewebe oft starkes Schrumpfen ein und die Gewebe bekommen eine zum Schneiden wenig angenehme Konsistenz. In dieser Hinsicht steht eben der Alkohol dem Formol nach, desgleichen auch insofern, als er rote Blutkörperchen unter Ausziehen des Hämoglobins leicht zerstört.

Man muß, wenn der Alkohol als Fixationsmittel dienen soll, sofort stärkeren, etwa 95%igen, verwenden, da er sonst nicht schnell genug koaguliert, darf nur kleine Stücke einlegen und wechselt nach 6—10 Stunden am besten schon mit absolutem Alkohol.

Vorteilhaft verwendet man absoluten Alkohol in einem sogenannten Exsikkator, um ihn absolut zu erhalten. Am Boden desselben befindet sich ausgeglühtes Kupfersulfat, welches, sobald es sich bläut, ersetzt werden muß. Auf ein Drahtnetz werden die Gewebsstücke gelegt, welche nicht mit dem Kupfer in Berührung kommen dürfen.

Um Gewebsstücke zu prüfen, ob sie völlig wasserfrei sind, braucht man sie nur in ein Xylolgefülltes Schälchen zu tauchen; sind sie nicht ganz wasserfrei, so bildet sich ein weißlicher Niederschlag. (Auf schwarzem Grund beobachten.) In derselben Weise kann man auch den Alkohol selbst prüfen, ob er ganz oder fast absolut ist.

Außer dem reinen Alkohol wird derselbe auch vielfach in Gemischen verwendet. Hier sei das besonders in Frankreich übliche und auch bei uns viel empfohlene *Carnoy*sche Gemisch erwähnt.

Absoluter Alkohol . . .	6 Teile,
Chloroform	3 „ ,
Eisessig	1 Teil.

Man fixiert 1—3 Stunden und überträgt dann ohne zu wässern in absoluten Alkohol.

Statt des Alkohols wird jetzt vielfach Aceton verwandt. Da es noch schneller fixiert und härtet — allerdings auch noch stärker schrumpfen läßt — wird es besonders bei den Schnellverfahren verwandt.

Besonders zur Darstellung von Zelldetails, so von Mitosen, ist als sehr geeignet das **Sublimat** und seine Lösungen zu empfehlen, besonders bei Nachfärbung mit Hilfe des *Heidenhain*schen Eisenhämatoxylins oder auch des *Biondi-Heidenhain*schen Dreifarbengemisches. Für manche Färbungen wie für die *Mallory*sche ist Sublimatlösung direkt indiziert; allerdings fixiert es nur langsamer. Man kann nur kleine Stücke verwenden und seine Anwendung ist dadurch umständlicher, daß Sublimatniederschläge erst wieder entfernt werden müssen und manche Färbungen mittelst Karmin nach Sublimatfixation nicht gut gelingen.

Man verwendet konzentrierte wässerige Sublimatlösung, der man am besten 5% Essigsäure zusetzt, und zwar läßt man die Lösung 2—6 Stunden einwirken, oder aber die **Zenkersche Lösung**:

Sublimat	0·5 *g*,
schwefelsaures Natrium . . .	1 *g*,
doppeltchromsaures Kalium . .	2·5 *g*,
destilliertes Wasser	100 cm^3,
Eisessig	5 cm^3.

Letzteren setzt man, nachdem die übrigen Bestandteile in der Wärme gelöst sind, gerade vor dem Gebrauche zu.

Man fixiert hierin 24 Stunden.

Vielfach wird auch die *Helly*sche Flüssigkeit, d. h. *Zenker*sche Lösung, welche statt 5 cm^3 Eisessig 5 cm^3 40%iges Formol enthält, besonders zur Darstellung von Zellgranula, empfohlen. Man härtet hierin 6 Stunden, dann 24 Stunden in essigsäurefreier *Zenker*scher Lösung nach.

Bei allen Sublimatlösungen muß nach der Fixation gründlich in fließendem Wasser (am besten 24 Stunden) gewässert werden. Dem zur Nachhärtung dienenden 70%igen Alkohol setzt man Jod zu, um die Quecksilberniederschläge aus den Geweben zu entfernen. Der durch den Jodzusatz braunrote Alkohol wird durch Entstehen von Quecksilberjodiden farblos; er muß dann gewechselt werden, und zwar so lange, bis die Entfärbung nicht mehr eintritt, d. h. die Gewebe kein Sublimat mehr enthalten. Statt des Alkohols mit Jodzusatz verwendet man besser *Lugol*sche Lösung, am besten z. B. folgende alkoholische:

Jod	0·5 *g*.
Jodkalium	5 *g*.
90%iger Alkohol . .	45 *cm*³.
Wasser	5 *cm*³.

Man kann auch noch die Schnitte etwa ½—1 Stunde in eine derartige Lösung einlegen und dann in Alkohol auswaschen.

Während die **Chromsäure** früher äußerst verbreitet war, werden heute fast nur noch die doppeltchromsauren Salze, d. h. die Salze der Dichromsäure ($Cr_2O_7H_2$), verwandt und auch diese zumeist in Form der sogenannten **Müllerschen Flüssigkeit.** Während letztere lange Zeit das allgemein übliche Fixationsmittel war, dient sie heute, besonders ihrer überaus langsamen Einwirkung wegen (sie muß mehrere Wochen lang unter häufigem Wechseln verwendet werden, doch beschleunigt Erwärmung ihren Einfluß), fast nur noch im Verein mit Formol als *Orth*sches Gemisch (siehe oben), als allgemeines Fixationsmittel. Ganz besonders beliebt ist sie fernerhin bei der Härtung von Zentralnervensystem und Auge; doch werden hier jetzt vor allem nach dem Vorgehen *Weigerts* speziell für Nervenfärbungen meist andere chromsaure Lösungen verwandt (s. unten).

Die *Müller*sche Flüssigkeit hat folgende Zusammensetzung:

doppeltchromsaures Kalium . .	2·5 *g*.
schwefelsaures Natrium	1 *g*,
destilliertes Wasser	100 *cm*³.

(*Zenker*sche Lösung stellt also eine *Müller*sche Flüssigkeit mit Zusatz von Sublimat und Eisessig dar.)

Die *Erlicky*sche Flüssigkeit, welche schneller wie die *Müller*sche Flüssigkeit einwirkt, stellt eine *Müller*sche Flüssigkeit dar, welche statt 1 *g* schwefelsaures Natrium 0·5 *g* schwefelsaures Kupfer enthält. Eventuell auftretende Niederschläge können mit heißem oder salzsäurehältigen Wasser oder ½%iger Chromsäurelösung wieder entfernt werden.

Insbesondere zur Darstellung von besonderen Kernstrukturen und besonders Mitosen gibt es kein besseres Fixierungsmittel als die **Osmiumsäure** (Osmiumtetroxyd = OsO_4) und ihre Gemische. Zugleich färbt die Osmiumsäure Fette schwarz und bringt sie so deutlich in die Erscheinung, allerdings muß man bei der Nacheinbettung und Einschließung Stoffe, welche auch osmiumgeschwärztes Fett leicht lösen, dann nach Möglichkeit vermeiden (s. auch unter Fett). Andrerseits hat die Osmiumsäure die Nachteile, daß die meisten Färbungen, insbesondere Kernfärbungen, sich schlecht anschließen lassen, daß ferner nur ganz kleine Stücke eingelegt werden können, und daß sie überaus teuer ist (etwa 15 Mk. das Gramm).

Die Osmiumsäure ist sehr flüchtig (gut verschlossene Gefäße verwenden!) und wird in wässeriger Lösung leicht reduziert; sie ist schwer aufhebbar und muß vor Licht und Staub gut geschützt stehen. Zusatz von 10 Tropfen 5%iger Sublimatlösung zu 100 *cm*³ Osmiumsäurelösung macht

diese weit haltbarer. Alle Lösungen müssen in destilliertem Wasser hergestellt werden.

Statt der 1%igen Osmiumsäurelösung wird besser das Flemmingsche **Gemisch** verwendet. Es enthält:

2%ige wässerige Osmiumsäurelösung 4 cm^3
1%ige wässerige Chromsäurelösung 15 „
Eisessig bis zu . . . . 1 „

Statt des *Flemming*schen Gemisches kann man mit Vorteil das aber noch teurere *Herrmann*sche Gemisch verwenden. Es stellt ein *Flemming*sches Gemisch, welches statt der 1%igen Chromsäurelösung 1%ige wässerige Platinchloridlösung 15 cm^3 enthält, dar.

Bei allen diesen Osmiumsäurelösungen (nur ganz kleine Stückchen verwenden!) muß man 24 Stunden lang fixieren, dann 1—2 Tage in fließendem Wasser wässern (sonst schlägt sich reduzierte Osmiumsäure in den Objekten nieder und täuscht Fette etc. vor) und dann in steigendem Alkohol nachhärten.

Das *Marchi*sche Gemisch (*Müller*sche Flüssigkeit 2 Teile, 1%ige wässerige Osmiumsäurelösung 1 Teil), sowie das *Altmann*sche Gemisch (5%ige wässerige Kalium bichromicumlösung, 2%ige wässerige Osmiumsäurelösung aa.) dienen speziellen Zwecken: ersteres Degenerationen im Nervensystem, letzteres der Darstellung der nach *Altmann* benannten Granula.

Seltener werden die Pikrinsäure, Pikrinschwefelsäure, Phosphorwolframsäure und zahlreiche andere hier nicht weiter aufzuführende Fixationsmittel verwandt.

Wegen der Theorie der Fixation und Härtung sei vor allem auf das große Werk von *Fischer* (Fixierung und Färbung des Protoplasmas, Jena 1899) sowie wegen der verschiedenen Fixationsmittel auf die Bücher von *Mann* und *Lee-Mayer* verwiesen.

Enthalten die zu fixierenden Stücke Knochen oder Kalk, welche das nachherige Schneiden erschweren oder verhindern würden, so müssen die Stücke **entkalkt** werden. Hierzu werden Säuren verwandt. Als allgemeine Gesichtspunkte empfiehlt es sich, sich an folgendes zu halten:

Nur kleine Gewebsstücke sollen in viel Entkalkungsflüssigkeit eingelegt werden; dieselben sollen vorher gut fixiert sein, oder aber man setzt zur gleichzeitigen Fixation der Entkalkungsflüssigkeit Formol zu. Die Stücke müssen in der Entkalkungsflüssigkeit bleiben, bis ihre Kalksalze gelöst sind (Erkennen dieses Zeitpunktes durch Einschneide- oder Einstechversuche mit Hilfe eines Messers oder einer Nadel), aber nicht länger, da sie sonst besonders stark angegriffen werden, Strukturveränderungen aufweisen und sich schlecht färben lassen. Die zur Entkalkung nötige Zeit variiert in jedem Falle sehr. Nach beendeter Entkalkung muß mindestens 24 Stunden in fließendem Wasser gewässert werden, am besten [illegible]

man zwischen Entkalkungsflüssigkeit und Wässern, um Quellungen zu vermeiden, eine chemische Bindung der Säure, d. h. Entfernung aus dem Gewebe vorgenommen hat, indem man die Stücke am besten 24 Stunden lang in Kalialaunlösung einlegt. Enthalten die Stücke viel Fettgewebe, welches das Eindringen der Säure verhindern und täuschende Kristalle hervorrufen kann, so entfettet man besser vor der Entkalkung. Bei späteren Färbungen von entkalktem Material muß man stets daran denken, lange zu färben, da die Schnitte infolge Vorbehandlung mit Säure meist schlecht Farbe annehmen. Man kann auch, falls noch Säure in den Schnitten sein sollte, diese vor der Färbung durch Einlegen in alkalische Lösungen, z. B. gesättigte wässerige Lösung von Lithium carbonicum, entfernen.

Als Entkalkungsmittel empfehle ich sehr die von *Ziegler* eingeführte **schweflige Säure,** welche konzentriert verwandt wird. Das Entkalkungsvermögen dieser Säure beruht auf der Umwandlung des unlöslichen Trikalziumphosphates in leicht lösliches Monokalziumphosphat. Die Gewebe quellen relativ wenig; eventuell sich bildende Niederschläge lösen sich leicht in Wasser; Färbungen gelingen gut.

Zu empfehlen ist auch die **Trichloressigsäure** (nach *Partsch*) am besten in Kombination mit Formol (5%ige Trichloressigsäure 90 *cm*³, 40%iges Formol 10 *cm*³).

Am meisten verwandt wird wohl die **Salpetersäure.** Ihre Gemische sind, wie *Schaffer* mit Recht betont, weniger zu empfehlen, als die einfache wässerige Salpetersäure. Sie darf nicht zu schwach sein, aber auch nicht zu stark, da sie sonst mazerieren würde. 5%ige gibt die besten Resultate. Am empfehlenswertesten ist hierbei das von *Thoma* angegebene Wasserrad, welches die Gewebe stets gleichmäßig mit der Flüssigkeit in Berührung bringt und so die Entkalkung beschleunigt. Auch in Celloidin eingebettete Objekte lassen sich mit Hilfe der Salpetersäure noch gut entkalken. Man kann auch die Salpetersäure direkt mit Formolzusatz zur gleichzeitigen Fixation und Entkalkung verwenden. Von ihren Gemischen seien das *Haug*sche Gemisch, die alkoholischen Lösungen nach *Mayer* und *Thoma*, sowie die Phlorogluzinmethode nur erwähnt.

Weniger zu empfehlen ist als Entkalkungsmittel die Salzsäure, am bekanntesten in Form der *Ebner*schen Flüssigkeit und des *Haug*schen Gemisches.

Die Pikrinsäure (gesättigte wässerige Lösung), sowie die Chromsäuregemische (vor allem *Müller*sche Flüssigkeit) entkalken nur überaus langsam, sind also eigentlich nur, wenn wenig Kalk vorhanden ist, anzuwenden (z. B. kindliche Knochen). Bei Anwendung der Pikrinsäure darf man nicht wässern, um Mazeration zu vermeiden, sondern muß in Alkohol auswaschen.

Erwähnt sei auch noch die Ameisensäure, welche zur Entkalkung manchmal verwandt wird, bei der aber besondere Vorsichtsmaßregeln (*Schmorl* verwendet sie mit Formolzusatz) zur Verhinderung der sonst auftretenden Quellung notwendig sind.

Unter Umständen ist auch eine **Entpigmentierung** nötig. Man verwendet hierzu starke Oxydationsmittel, wie Chlor in statu nascendi (z. B. durch Übergießen von chlorsaurem Kalium mit 2–8 Tropfen Salzsäure und Auffangen des Chlors in 70%igem Alkohol) oder Chlorsäurelösung von *Merck*, oder 3–10%ige Lösung von Wasserstoffsuperoxyd etc. Mit diesen Mitteln kann man eventuell auch Osmiumsäure, besonders aus Schnitten, ausziehen. Oder man bleicht durch Reduktion besonders mit Hilfe konzentrierter Lösung von schwefliger Säure in Alkohol. Oder endlich man löst das Pigment in Salzsäure oder Salpetersäure oder Natronlauge.

Abschnitt III. Gefrierverfahren.

Die fixierten und gehärteten Stücke können direkt auf dem Gefriermikrotom geschnitten werden. Da diese Methode überaus schnell und einfach ist und die Mikrotome relativ billig sind, ist sie, zumal auch gute und gut färbbare Schnitte leicht gelingen, im allgemeinen sehr zu empfehlen. Der stark schrumpfende Alkohol wird vermieden, daher erscheinen die Schnitte dünner als solche von Einbettungsmaterial von entsprechender Dicke; die meisten Strukturen werden gut erhalten. Die Wichtigkeit dieser Methode zur Darstellung der Fette und Lipoide ist gerade wegen der Vermeidung aller fettlösenden Mittel einleuchtend. Manche Färbungen, wie die *Bielschowsky*sche, gelingen meist nur nach dieser Methode gut. Andrerseits ist für alles nicht zusammenhängende oder zu weiche Material, sowie wenn es auf feinste Details ankommt und ganz feine Schnitte benötigt werden, Einbettung unbedingt vorzuziehen. Daß unter den Gefriermikrotomen die mit Kohlensäurebetrieb, besonders das *Becker-Sartorius*sche (Göttingen), besonders empfehlenswert sind, ist schon einleitend bemerkt.

Eine Beschreibung des Mikrotoms erübrigt sich. Es sei nur erwähnt, daß man nach Öffnen der Schraube an der Kohlensäurebombe das am Apparat selbst angebrachte Hebelventil nur kurz öffnen darf, da sonst der Apparat explodieren könnte. Wenn die flüssige Kohlensäure zu viel Wasser enthält, kommt es leicht zum Einfrieren der Ventile und des Rohres und somit Versagen des Apparates. Da dies oft, wenn eine Kohlensäurebombe frisch angeschraubt wird, der Fall ist, läßt man sie am besten mit abwärts gesenktem Halse, also so wie sie in dem eisernen Dreifuß steht, einige Zeit stehen, ohne den Verbindungsschlauch zum Apparat anzuschrauben. Das Wasser senkt sich, und wenn man nun das untere Ventil der eisernen Flasche öffnet, so gelangt das Wasser mit der Kohlensäure direkt nach außen. Schraubt man nunmehr den Apparat an, so funktioniert die Gefriervorrichtung.

Das Wichtigste bei der Gefriermikrotommethode und zugleich das Schwierigste ist es, den richtigen Grad des Gefrierens herauszufinden. Hier bildet erst Übung den Meister. Zu wenig durchgefrorene Objekte werden beim Schneiden in ihrer Struktur zu sehr verändert; überfrorene Stücke zeigen noch erheblichere Strukturveränderungen, zudem lassen sich dann oft überhaupt keine Schnitte, sondern nur Splitter herstellen.

Ist das Gefrierverfahren auch am frischen Objekt anwendbar, so ist es doch weit mehr zu empfehlen, ihm vorfixierte Objekte zu unterwerfen. Am allerbesten zur Vorfixierung eignet sich nun gerade hier, wie oben angegeben, das Formol; desgleichen auch das *Orth*sche Gemisch (kurz Wässern); doch kann man auch Stücke aus *Müller*scher Flüssigkeit, Sublimatlösungen etc. nach längerem Wässern auf dem Gefriermikrotom schneiden. In Alkohol fixierte Objekte werden am besten erst in Formol übertragen und dann geschnitten.

Man fängt die Schnitte am besten (Abnehmen vom Messer am vorteilhaftesten mit dem Finger) in 70%igem Alkohol auf; sie färben sich dann besser.

Abschnitt IV. Einbettung.

Stücke, welche eingebettet werden sollen, kommen aus dem zur Härtung oder Nachhärtung und zur Entwässerung dienenden absoluten Alkohol in ein „Intermedium" *(Mayer)* und sodann in ein Einbettungsmaterial, welches sie auf den größeren Mikrotomen gut schneidbar macht. Als solches steht uns einmal das Zelloidin, sodann das Paraffin zur Verfügung. Da beide Substanzen Vorteile und Nachteile haben, da diese zudem subjektiv sehr verschieden empfunden werden, und somit die Wahl des einen oder anderen und die Bevorzugung desselben meist der größeren Gewohnheit an das eine oder andere entspringt, ist es bei weitem am ratsamsten, sich genügende Übung in beiden Verfahren anzueignen. Von den mancherlei Vorteilen und Nachteilen des Zelloidins wie des Paraffins sei hier aus meiner „Technik" nur folgende Übersicht zitiert:

Die Paraffineinbettung ist vorteilhaft, wenn sehr dünne Schnitte hergestellt werden sollen, besonders zur Erkennung feinster Zellstrukturen, ferner wenn man die Schnitte auf den Objektträger aufkleben muß, weil es sich um einzelne Teile handelt, welche sich sonst leicht voneinander lösen würden und wenn Serienschnitte angelegt werden sollen.

In den anderen Fällen ziehe ich die Zelloidinmethode als diejenige vor, welche weniger eingreifende Veränderungen im Gewebe setzt, und bei welcher die Schnitte nachher leichter behandelt werden können. Auch bei ihr ist ein Aufkleben der Schnitte eventuell zur Anfertigung von Serienschnitten sehr leicht bewerkstellbar.

Die meisten Farbmethoden gelingen nach beiden Einbettungsarten; manche sind speziell für die eine oder andere angegeben worden.

Zelloidineinbettung: Das käufliche Zelloidin *(Schering)* ist ein ganz reines Dinitrat der Zellulose, also chemisch mit dem Kollodium identisch. Man löst es in der Weise, daß man eine käufliche Tafel in kleine Würfel schneidet, in gut schließbarem Gefäße mit weitem Hals mit reinem absolutem Alkohol übergießt, gut umrührt und nach 24 Stunden dieselbe Menge (wie von absolutem Alkohol) Äther nachgießt und wieder gut umrührt, desgleichen nach 24 Stunden; dann ist das Zelloidin in dieser Alkohol-Äthermischung gut gelöst. Man stellt sich am besten drei ver-

schieden dicke Lösungen, eine etwa 2%ige, eine 5%ige und eine 6 bis 10%ige her.

Die Gewebsstücke gelangen aus dem absoluten Alkohol in ein Gemisch von absolutem Alkohol und Äther ana als Intermedium auf 24 Stunden, sodann in die dünne, dann in die mitteldicke und dann in die dicke Zelloidinlösung; in jeder bleiben sie mindestens 24 Stunden, noch besser mehrere Tage. Man montiert nun die Gewebsstücke mit dem Zelloidin, am einfachsten indem man die Stücke mit dem Zelloidin mit Hilfe einer Pinzette auf einen kleinen, in der Mikrotomkammer anbringbaren Holzklotz aufsetzt (das Holz muß durch Kochen in 2%iger Sodalösung und längerer Aufbewahrung in Alkohol-Äther vollständig gerbsäurefrei gemacht sein). Man verwendet anstatt der Holzklötze auch vorteilhaft Blöcke aus Glas oder aus Vulkanit oder Stabilit. Der Block muß bei Aufbringung des Zelloidins mit dem Gewebsstück vollständig trocken sein. Das Gewebsstück muß allseitig von Zelloidin umgeben auf dem Block angebracht sein. Man läßt nun kurz an der Luft trocknen bis ein leichter Fingereindruck, nicht Nageleindruck, nicht mehr in das Zelloidin eindringt und wirft nun Klotz plus Zelloidingewebsstück zum definitiven Härten in 70—80%igen Alkohol. Nach Ablauf von 3—24 Stunden kann man schneiden.

Steht mehr Zeit zur Verfügung, so läßt man besser allmählich den Alkohol-Äther verdunsten, wodurch das Zelloidin besser schneidbar wird. Man erreicht dies, indem man den Zelloidinblock unter einer Glasglocke aufstellt und ebenfalls unter die Glasglocke neben dem Zelloidinblock ein Fläschchen mit Chloroform aufstellt; der Alkohol-Äther entweicht dann langsamer, d. h. der Zelloidinblock wird langsamer halbfest und wird nun auch in 70—80%igen Alkohol übertragen. Oder aber man läßt das Zelloidin in ähnlicher Weise mit dem Gewebsstück in einem Glasschälchen durch Verdunsten des Alkohol-Äthers noch allmählicher sich eindicken und schneidet nun Zelloidin plus Gewebsstück, wenn ersteres die richtige Konsistenz hat, zur Übertragung in Alkohol heraus.

In 70%igem Alkohol kann man nach einer dieser Arten angefertigte Zelloidinblöcke mit dem Klotz lange Zeit aufheben oder man kann sie auch nach *Apathy* mit einer Decke von Paraffin versehen trocken bewahren.

Ist große Eile geboten, so muß man die Zelloidineinbettung beschleunigen. Man überträgt dann kleine Stückchen Gewebe zur Härtung in 96%igen, sodann in absoluten Alkohol, bis sie unter häufigerem Wechseln wasserfrei sind und dann entweder auf einige Stunden in Alkohol-Äther oder auch $\frac{1}{2}$—1 Stunde bei 37° in Azeton, dann in dünnere und dann in dicke Zelloidinlösung, mindestens einige, besser aber doch 24 Stunden. Der Block wird dann wie angegeben hergestellt.

Beim Schneiden von Zelloidinblöcken müssen Messer und Block stets mit 70—80%igem Alkohol gut angefeuchtet werden, mit Hilfe eines Haarpinsels oder einer Spritzflasche. Das Messer muß möglichst langsam durch das Präparat hindurch geführt werden. Messer und Mikrotomschlitten

bilden also einen sehr spitzen Winkel miteinander. Die Schnitte, welche sich in der Regel leicht glätten, werden meist in 70%igem Alkohol aufgefangen.

Paraffineinbettung: Es handelt sich hier um ein Medium, welches in der Wärme flüssig, in der Kälte fest ist. Es muß also ein Ofen zur Verfügung stehen; am besten sind die größeren Apparate von *Lautenschlager*. Als Paraffin verwendet man solches von 45 und 56° Schmelzpunkt, durch deren Mischung man sich jede beliebige Härte herstellen kann. In der Regel ist Paraffin von 51—54° Schmelzpunkt am geeignetsten, im Sommer von 56—58°. Der Paraffinofen muß 1—2° höher als der Schmelzpunkt des Paraffins ist einstehen. Das Gewebsstück kommt aus absolutem Alkohol in Xylol, in welchem es 2—3 Stunden bleibt und sodann als Intermedium in eine Mischung von Paraffin und Xylol, und zwar von soviel Paraffin als das Xylol bei 37° löst. Statt des Xylol wird auch Chloroform (welches man durch Entweichen bei Erwärmung durch Zusatz von Paraffin später am besten allmählich aus dem Gewebsstück entfernt) oder Benzol (welches am besten mehrfach zu wechseln ist) oder Zedernholzöl oder auch Schwefelkohlenstoff verwendet. Auf jeden Fall müssen die Stücke aus einem Intermedium in das reine flüssige Paraffin im Ofen gebracht werden, wo sie 1—2 Stunden bleiben, um dann nochmals 1 bis 2 Stunden in ein zweites Paraffin und dann eventuell sogar noch in ein drittes übertragen zu werden. Am besten verwendet man als erstes Paraffinbad ein solches von 48° Schmelzpunkt, als zweites und eventuell drittes ein solches von 51—54°. Länger wie 4 Stunden etwa sollen die Stücke auf keinen Fall überhaupt in Paraffin bleiben; sie müssen dann durch plötzliches Abkühlen zum Erstarren gebracht werden. Man erreicht dies dadurch, daß man Paraffin in ein kleines eventuell mit Fett umrandetes Glasschälchen oder Papierkästchen oder einen der extra konstruierten Rahmen eingießt, in das flüssige Paraffin mit Hilfe einer leicht erwärmten Pinzette das Gewebsstückchen, so daß die Ebene, in welcher die Schnitte beginnen sollen, nach unten liegt, einordnet, das Schälchen, Kästchen etc. durch Aufgießen von flüssigem Paraffin ganz füllt und nun, sobald ein feinstes Häutchen Gerinnung des Paraffins an der Oberfläche anzeigt, das Ganze sofort und plötzlich in eine Schale mit kaltem Wasser eintaucht. Wenn das Paraffin ganz hart ist, befreit man den Block von seiner Umgebung. Man kann ihn dann wie gewünscht beschneiden, aber es muß stets ein breiter Paraffinrand um das Gewebsstück stehen bleiben. Einen solchen Block kann man direkt in die Mikrotomklammer einklemmen, oder besser man klebt ihn mit Hilfe eines Tropfens flüssigen Paraffins auf einen Holzblock auf und spannt diesen in die Mikrotomklammer ein. Sehr gut ist das überhitzte Paraffin nach *Graf Spee*, d. h. über freier Flamme im Abzug 6—24 Stunden (bis es ganz honiggelb gefärbt wird) gekochtes Paraffin, zu verwenden.

Beim Paraffin stehen uns gut anwendbare Schnellmethoden ebenfalls zur Verfügung. Man kann z. B. (*Henke* und *Zeller*) kleine Stückchen

$^1/_2$ –1 Stunde in reines Azeton bringen, dann direkt etwa $^1/_2$ Stunde in Paraffin übertragen und den Block herstellen. Besser verfährt man nach *Lubarsch*, indem man kleine Gewebsstückchen wenigstens $^1/_2$ Stunde unter zweimaligem Wechseln in 10%igem Formol fixiert, dann auf je 10 Minuten in 95%igen und absoluten Alkohol unter mehrfachem Wechseln überträgt, die Stücke 10 Minuten bis $^1/_2$ Stunde in reinem Anilinöl durchsichtig macht, 10–15 Minuten in mehrfach zu wechselndes Xylol und dann etwa 1 Stunde in Paraffin überträgt, die ganzen Prozeduren aber bei 50° vor sich gehen läßt.

Beim Schneiden von Paraffinblöcken verfährt man trocken: das Messer soll beim Schneiden im allgemeinen quer zu dem Block gestellt sein und so durch ihn durchgezogen werden. Paraffinschnitte rollen sich sehr leicht. Man kann dies verhüten, indem man mit der linken Hand während des Schneidens den Schnitt mittelst eines feinen Pinsels glättet, besonders wenn man den Block vor jedem Schnitt durch Anhauchen oder sonst leicht erwärmt. Auch existieren eigene Schnittstrecker. Man nimmt die Schnitte mittelst eines Pinsels oder einer Nadel oder Pinzette vom Messer und überträgt sie seltener in 70%igen Alkohol, öfters in warmes Wasser, oder direkt auf den Objektträger (s. unten). Sehr empfehlenswert sind die nach *Minot* konstruierten bänderschneidenden Paraffinmikrotome.

Abschnitt V. Allgemeine Weiterbehandlung der Schnitte.

Die Schnitte können anstatt als freie Schnitte weiteren Manipulationen unterworfen zu werden, zunächst **auf Objektträger aufgeklebt** werden, so daß sie an diesen festhaften und mit ihnen weiterbehandelt werden. Es ist dies bei Gefrierschnitten und Zelloidinschnitten seltener, und nur wenn die Schnitte leicht zerfallen und bei ganz bestimmten komplizierten Methoden, bei Paraffinschnitten hingegen in der Regel notwendig. Ferner ist ein derartiges Aufkleben von Schnitten Voraussetzung, wenn **Serienschnitte** hergestellt werden sollen. Die Verfahren des Aufklebens sind bei Gefrierschnitten, Zelloidin- und Paraffinschnitten unter sich etwas verschieden. Es sind sehr zahlreiche Methoden angegeben worden, wegen deren ich z. B. auf meine „Technik“ verweise, während ich nur einige wenige sehr empfehlenswerte Methoden erwähnen kann.

Gefriermikrotomschnitte werden fast nur, wenn sie sonst zu leicht zerfallen, aufgeklebt. Wirkliche Serienschnitte sind hier kaum einfach herstellbar. Eine Aufklebemethode ist z. B. von *Olt* mit Hilfe einer Eiweißgelatinemischung, welche in Formol erhärtet, angegeben worden.

Ich persönlich verfahre folgendermaßen, wobei ich die Gefrierschnitte gewissermaßen in Zelloidinschnitte umwandle: Man zieht den Schnitt auf einen gut gereinigten und fettfrei gemachten Objektträger, trocknet ihn durch Anpressen mehrerer Lagen Filtrierpapiers und übergießt sofort mit absolutem Alkohol und sodann mit Äther. Bevor noch der Äther vollständig verdunstet ist, übergießt man mit ganz dünner Zelloidinlösung (einige Tropfen Zelloidinlösung mit reichlich absolutem Alkohol – Äther au

verdünnt). Durch Senkrechtstellung des Objektträgers läßt man das dünne Zelloidin in dünner Schicht über Schnitte und Objektträger sich ausbreiten, sowie den Überfluß ablaufen. Dann bringt man Objektträger plus Schnitt in 70%igen Alkohol zum Härten des Zelloidins und nach etwa 1/2 Stunde in Wasser, um ihn jetzt weiter zu verwenden. Man kann auch vor Aufbringen des Schnittes den Objektträger mit einer Spur Eiweißglycerin (s. unten) beziehen.

Für die *Weigert*sche Fibrinfärbung u. dgl. genügt es, den Gefrierschnitt einfach mittelst Filtrierpapiers an den Objektträger anzupressen. Er hält dann meist ganz gut.

Zelloidinschnitte werden zumeist mittelst des *Weigert*schen Verfahrens aufgeklebt und so auch Serien hergestellt. Man ordnet hierbei eine Reihe von Schnitten in eine gerade Linie auf dem Messerrücken und zieht sie mittelst eines feuchten (70%iger Alkohol) Filtrierpapierstreifens wie Abziehbilder ab; die Streifen mit ihren Schnitten werden feucht gehalten, bis genügend für eine größere Glasplatte, welche man hier besser als die kleinen Objektträger verwendet, zur Verfügung stehen. Inzwischen hat man sich eine Platte mit ganz dünnem Zelloidin (s. oben) übergossen und das Zelloidin auf der Glasplatte in ganz dünner Schicht eintrocknen lassen. Hierauf werden nun der richtigen Reihenfolge entsprechend die feuchten Filtrierpapierstreifen mit den Schnitten angepreßt, und durch Abziehen der Streifen haften die Schnitte an der Zelloidinschicht der Platte. Die Platte mit den Schnitten wird mit Filtrierpapier getrocknet und sofort eine zweite ganz dünne Schicht Zelloidin darüber gegossen. Nun wird die Glasplatte mit den in zwei Zelloidinschichten eingelagerten Schnitten zum Härten des Zelloidins in 80%igen Alkohol übertragen. Jetzt kann man die Glasplatte mit den Schnitten weiter behandeln, oder aber das Zelloidinhäutchen mit den Schnitten durch Einlegen in Wasser von der Platte lösen und allein weiter behandeln.

Die Methode hat den Vorteil großer Sicherheit, den Nachteil einer gar dicken (doppelten) Zelloidinschicht. Eine Reihe von Methoden, wie von *Dimmer*, *Obregia* u. a., versuchen dies zu vermeiden, ähnlich auch solche von *Rubaschkin, Maier, Olt* etc.

Ich gebrauche folgende Methode:

Man überzieht eine Glasplatte mit einer ganz dünnen Lage von Eiweißglyzerin (s. unten), ganz so wie bei dem Paraffinverfahren angegeben, und läßt dieses eventuell durch Durchziehen durch den Bunsenbrenner koagulieren. Die Schnitte werden auf dem Messer geordnet, in der von *Weigert* erdachten Art mittelst Streifen von Klosettpapier, oder besser dickerem Filtrierpapier, ganz wie oben beschrieben, abgezogen und auf den mit dem Eiweißglyzerin beschickten Objektträger übertragen. Mit mehrfachen Lagen Filtrierpapier trocknet man nunmehr die Platte und übergießt sie sofort mit absolutem Alkohol und, bevor dieser verdunstet (man kann aber den Überschuß von Alkohol fast ganz abgießen), mit Äther. Man braucht nicht zu warten oder soll gar nicht warten, bis dieser verdunstet

ist, sondern nach einigen Sekunden läßt man durch Schräghalten der Platte den überschüssigen Äther abfließen, ohne aber durch vollständiges Abfließen des Äthers die Schnitte trocken zu legen. Jetzt wird die Platte auf etwa 1/4—1/2 Stunde in 70%igen Alkohol eingelegt und man kann nunmehr die Platte mit den aufgeklebten Schnitten weiter behandeln.

Bei diesem Verfahren wird das an den Schnitten selbst befindliche Zelloidin in dem Alkohol-Äther gelöst und über die ganze Glasplatte verteilt; durch Verdunsten des Alkohols und Äthers ist somit die ganze Glasplatte von einer dünnen Zelloidinschicht bedeckt, welche im 70%igen Alkohol hart wird und mit den Schnitten infolge des Klebemittels der Glasplatte fest anhaftet. Es ist klar, daß bei diesem Verfahren die Schnitte in einem ganz dünnen Zelloidinhäutchen festliegen. Es ist nur während der Manipulationen darauf zu achten, daß der absolute Alkohol und der Äther nie ganz verdunsten, so daß die Schnitte nie ganz trocken liegen und ferner, daß die Schnitte beim Übergießen des Äthers, in dem das Zelloidin sich löst, nicht wegschwimmen; man verhütet dies, indem man die Platte wagrecht legt.

Für Serienschnitte von en bloc gefärbten Zelloidinblöcken dient die Methode von *Langhans*, am besten mit einer kleinen Modifikation von *Schmorl*. Man befeuchtet hierbei während des Schneidens das Messer mit 3 Teilen Origanumöl plus 1 Teil absolutem Alkohol und ordnet die Schnitte auf einem Objektträger, den man mit einer dünnen Lage von Origanumöl beschickt hat. Man trocknet mit Filtrierpapier und schließt in Kanadabalsam ein.

Paraffinschnitte müssen nicht nur bei Serien, sondern in der Regel aufgeklebt werden. Hier stehen mehrere Methoden zur Verfügung. Einmal mittelst Kapillarattraktion, indem man den Schnitt in warmes Wasser bringt und aus diesem auf den Objektträger aufzieht und ihn zur Verdunstung des Wassers auf etwa 12 Stunden in den Brütofen bei 37° einlegt, oder auch, wenn große Eile geboten ist, über der Flamme trocknet. Des weiteren steht eine Methode zur Verfügung, wobei zum Haften der Schnitte eine ganz dünne Bestreichung des Objektträgers bezw. der Glasplatte mit sogenanntem Eiweißglyzerin verwandt wird. Diesen stellt man sich so her, daß man das Weiße eines Eies schlägt, filtriert, dieselbe Menge Glyzerin und ein Kristall Karbolsäure oder Thymol zufügt. Hier wird der mit Glyzerinleim bestrichene Objektträger, auf den der Schnitt aufgezogen wird, 12 Stunden in den Brütofen bei 37° eingelegt. Am meisten dürfte sich eine Kombination der beiden Methoden empfehlen. Auch hier wird der Objektträger in ganz dünner Schicht mit dem Eiweißglyzerin überzogen, man läßt dann das Eiweiß über der Flamme koagulieren und bringt die Schnitte aus warmem Wasser (45°) mit etwas von diesem auf den Objektträger. Der Überschuß an Wasser wird von dem Objektträger entfernt und dieser mit den Schnitten auf 12 Stunden in den Brutschrank bei 37° eingebracht. Die Schnitte glätten sich dann meist sehr gut und haften fest (sogenannte japanische Methode).

Während diese Methoden schon für das Aufkleben einfacher Paraffinschnitte in der Regel verwendet werden, genügen sie aber auch vollständig, wenn man zahlreiche Schnitte in der gleichen Weise auf dem Objektträger oder größeren Glasplatte in der richtigen Reihenfolge ordnet, zur Herstellung von Serien. Hier ist die zuletzt erwähnte Kombinationsmethode die empfehlenswerteste. Doch gibt es hier noch ganz andere Methoden, wie diejenige von *Straßer* mittelst Zelloidin-Äther-Rizinusöl oder diejenige von *Schmorl*, welcher ebenfalls die Paraffinschnitte gewissermaßen in Zelloidinschnitte verwandelt.

Unaufgeklebte Schnitte wie aufgeklebte Schnitte wie Serienschnitte werden nun Färbungen unterzogen, welche je nach der einzelnen Methode verschieden sind. Sie müssen aber sodann noch weiter behandelt werden nach der Färbung, da sie zum Schluß noch **entwässert,** sodann in einem Intermedium, als welches gewöhnlich Xylol oder ätherische Öle dienen, **aufgehellt** werden müssen und dann erst dauernd in Kanadabalsam **eingeschlossen** werden können. Diese allen Farbmethoden gemeinsamen Nachprozeduren sollen hier noch ganz kurz geschildert werden. Sie gestalten sich für Zelloidin-, Paraffin- und Gefrierschnitte etwas verschieden.

Am einfachsten ist es bei Gefriermikrotomschnitten, welche nach der Färbung in absolutem Alkohol entwässert, in reinem Xylol aufgehellt, auf den Objektträger aufgezogen, mit Filtrierpapier zur Glättung des Schnittes angetrocknet und durch Aufbringen eines Tropfens Kanadabalsam und Auflegen eines Deckgläschens eingeschlossen werden.

Der Kanadabalsamtropfen darf nicht zu groß und nicht zu klein sein, auch muß der Balsam die richtige Konsistenz haben. Er ist in der Regel in Xylol gelöst, für manche Färbungen ist reiner Kanadabalsam, in der Wärme flüssig gemacht, vorzuziehen. Ebenso neutraler Kanadabalsam im Gegensatz zu dem gewöhnlichen, welcher durch Oxydation leicht sauer reagiert. Statt des Kanadabalsams ist manchmal, so bei der *Weigert*schen Gliamethode, Kolophonium zur besseren Haltbarkeit der Färbung besser anzuwenden.

Zelloidinschnitte machen insofern eine Vorsicht notwendig, als absoluter Alkohol nicht zur vollständigen Entwässerung benutzt werden kann, da er das Zelloidin lösen und somit die Schnitte verfallen lassen würde. Xylol kann aber nur nach vollständiger Entwässerung in absolutem Alkohol angewandt werden. Infolgedessen verwendet man nur 96%igen Alkohol, sodann ätherische Öle, wie Bergamotte-, Zedern-, Origanumöl, oder besser folgendes Verfahren, welches überaus einfach ist und sich auch für Gefriermikrotomschnitte empfiehlt, so daß man dann Gefrierschnitte und Zelloidinschnitte ganz gleich behandeln kann. (Mittelst Zelloidin aufgeklebte Gefrierschnitte muß man ja so wie so wie Zelloidinschnitte unter Vermeidung von absolutem Alkohol behandeln.) Bei diesem von *Weigert* angegebenen Verfahren benötigt man Karbolxylol, welches aus 3 Teilen Xylol und 1 Teil geschmolzener kristallisierter Karbolsäure besteht. Dieses entwässert infolge der hygroskopischen Wirkung der Karbolsäure die

Schnitte vollständig, so daß auch aus 96%igem Alkohol in dieses Karbolxylol (nicht in reines Xylol) übertragen werden kann. Sie werden hier also ihres letzten Wassers beraubt und gleichzeitig aufgehellt. Man verfährt dann folgendermaßen: Die Schnitte werden (nach der Färbung) in 96%igem Alkohol größtenteils entwässert, dann in Karbolxylol übertragen, wo sie entwässert und aufgehellt werden. Aus diesem zieht man sie auf den Objektträger auf, tropft einige Tropfen reines Xylol darauf, welches jetzt keine Trübung hervorrufen darf, trocknet mittelst Filtrierpapier und schließt in Kanadabalsam ein.

Dies Karbolxylol muß aber bei Anilinfarben vermieden werden, da solche sich in der Karbolsäure lösen und somit die Färbung verloren ginge. Man kann hier folgendermaßen mehr mechanisch vorgehen: Man zieht den Schnitt aus 96%igem Alkohol auf den Objektträger auf und gießt einige Tropfen Xylol darüber; es bildet sich dann eine weißliche Trübung. Man trocknet nun mit Filtrierpapier, bringt wieder Xylol darauf und setzt dies solange fort, bis mechanisch der Schnitt getrocknet ist und das Xylol keine Trübung hervorruft. Nun schließt man in Kanadabalsam ein. Der Schnitt soll bei diesen Prozeduren niemals trocken liegen.

Für die *Weigert*sche Fibrinmethode genügt auch bei Zelloidinschnitten, wie oben bei den Gefrierschnitten angegeben, ein Anpressen des Schnittes an den Objektträger mittelst Filtrierpapiers.

Muß aus irgend einem Grunde das Zelloidin aus den Schnitten entfernt werden, so bewirkt man dies mittelst Alkohol absolutus, Äther aa., am besten auf dem Objektträger.

Paraffinschnitte werden, wenn sie frei (unaufgeklebt) behandelt werden, nach der Färbung in absoluten Alkohol übertragen, dann am besten auf den Objektträger aufgezogen und nunmehr durch Xylol, welches ja das Paraffin löst, aufgehellt, mit Filtrierpapier getrocknet und in Kanadabalsam eingeschlossen. Schnitte mit Paraffin müssen lange in den Farblösungen liegen bleiben, da sie Farben nur schwer aufnehmen.

Muß aus irgend einem Grunde Alkohol vollständig vermieden werden, so kann man nach *Schmorl* Schnitte auf den Objektträger aus Wasser aufziehen, im Brutofen trocknen und nun Xylol aufgießen, mit Filtrierpapier trocknen und dies wie oben angegeben fortsetzen bis der Schnitt ganz aufgehellt ist und ihn dann in Kanadabalsam einschließen.

Dicke Paraffinschnitte kann man auch zuerst in Xylol ihres Paraffins berauben und dann den Schnitt allein weiter färben und behandeln, doch zerfällt der Schnitt dann leicht und es ist dies daher nicht empfehlenswert.

In der Regel aber werden Paraffinschnitte und ganz besonders Serienschnitte mit einer der oben angegebenen Methoden auf den Objektträger aufgeklebt und mit diesem gefärbt und weiter behandelt. Wenn die Aufklebeprozedur zu Ende ist, legt man den Objektträger plus Schnitt 10 Minuten zur Lösung des Paraffins in Xylol, sodann 10 Minuten zur Entfernung des Xylols in absoluten Alkohol und dann einige Minuten in etwa 80%igen Alkohol. Objektträger plus Schnitt wird dann gefärbt etc. Hier kann man ja nun zum Schluß absoluten Alkohol zur Entwässerung

Xylol zur Aufhellung nehmen und dann in Kanadabalsam einschließen, ohne daß hier besondere Vorsichtsmaßregeln nötig wären.

Bei manchen Färbungen, einerlei ob an Gefrierschnitten, Zelloidin- oder Paraffinschnitten vorgenommen, muß absoluter Alkohol zur Entwässerung vollständig vermieden werden, so z. B. wenn es sich um Färbungen von Fetten oder Lipoiden, Färbungen auf Amyloid etc. handelt. Hier kann also auch Xylol zur Aufhellung nicht verwandt, also auch nicht in Kanadabalsam eingeschlossen werden. In diesen Fällen zieht man aus Glyzerin auf und schließt in dieses ein, umrandet aber, um gegen Verdunstung zu schützen, mit Wachs, Paraffin oder Lack. Oder besser man bettet in Glyzerin-Gelatine ein. Diese enthält z. B. 1 Teil Gelatine, 3 Teile Wasser, 4 Teile Glyzerin. Es wird gekocht und heiß filtriert. Diese Gelatinemasse, in der Kälte fest, wird in einem Reagenzröhrchen durch Erwärmen etwas geschmolzen und ein Tropfen wird auf den mit dem Schnitt versehenen Objektträger aufgebracht und das Deckgläschen darüber gebreitet. Nach dem Erkalten ist die Gelatine fest und das Deckgläschen hält fest. Man kann den Schnitt auf den Objektträger bei diesem Verfahren aus Wasser aufziehen, jede Entwässerung ist unnötig, doch sind derartige Schnitte allerdings nicht so aufgehellt wie in Kanadabalsam eingeschlossene.

Abschnitt VI. Farbmethoden.

Während die bisherigen Prozeduren, welche den meisten Methoden gemeinsam sind, etwas genauer besprochen wurden, kann hier von den ganz unzähligen Farbmethoden, deren allermeiste nur selten zur Anwendung kommen, nur eine ganz kleine Auswahl gegeben werden. Es kann sich hier nur um die allergebräuchlichsten und empfehlenswertesten Methoden handeln. Für eine größere Zahl derselben verweise ich auf meine „Technik".

Ich werde kurz das Allerwichtigste aus folgenden Rubriken zusammenstellen.

A. Farbmethoden für allgemeine Zellbestandteile.

B. Für Interzellularsubstanzen.

C. Für besondere, unter normalen und pathologischen Bedingungen vorhandene Stoffe.

D. Für einzelne Organe bezw. Organsysteme.

E. Für Parasiten.

A. Farbmethoden für allgemeine Zellbestandteile.

An die Spitze darf hier die epochemachende Feststellung *Ehrlichs* gestellt werden, daß fast alle basischen Anilinfarben Kerne, saure Farben hingegen das Protoplasma (und die Interzellularsubstanzen) färben. Während für das Protoplasma nun in der Tat fast nur saure Anilinfarben, vor allem Pikrinsäure, Säurefuchsin, Orange G verwendet werden, stehen bei der

Kernfärbung die basischen Anilinfarben in zweiter Linie, in erster hingegen die beiden natürlichen Farbstoffe Hämatoxylin und Karmin.

I. Kernfärbungen.

Die basischen Anilinfarben, welche hier am meisten gebraucht werden, sind Methylenblau, Fuchsin, Safranin, Methylviolett, Methylgrün, Kresylviolett etc. Doch werden sie zumeist nur wenn gleichzeitig Bakterien gefärbt werden sollen (das Methylgrün färbt als einziger basischer Farbstoff zwar Kerne, aber nicht Bakterien) oder für bestimmte Methoden angewandt; sonst sind, wie gesagt, schon ihrer besseren Haltbarkeit und leichteren Kombination mit guten Protoplasmafarben wegen, das Hämatoxylin und das Karmin vorzuziehen und unter diesen beiden wieder steht das Hämatoxylin, welches in Kombination mit der sogenannten *van Gieson*-Methode für alle Kern-Plasmafärbungen nicht warm genug empfohlen werden kann, vor. Das Karmin wird hauptsächlich, wenn es sich um eine Kontrastfärbung bei Blaufärbung von Bakterien, elastischen Fasern, Fibrin etc. handelt, oder auch als Kontrastfarbe beim Vorhandensein von braunem Pigment, welches so am besten in die Erscheinung tritt, angewandt.

a) Hämatoxylin.

Das Hämatoxylin selbst ist kein Farbstoff, sondern eine Leukobase. Erst seine Oxydationsstufe, das Hämatein, oder auch noch höhere Oxydationsstufen sind Farbstoffe. Man muß daher Hämatoxylinlösungen erst oxydieren, d. h. „reifen" lassen, oder man kann dies mit Hilfe von Oxydationsmitteln sofort bewirken; ersteres ist üblicher. Des weiteren sind Hämatoxylinlösungen adjektive Farben, d. h. es muß eine Beize einwirken, entweder vorher oder gleichzeitig mit der Farblösung. Als Beizen kommen Alaun und Metalle, vor allem Kupfer und Eisen in Betracht. Fast alle Hämatoxylinlösungen müssen nach der Reifung filtriert werden. Die Färbung gelingt fast nach jeder Härtung, außer nach Osmiumsäure; hier ist eventuell das *Benda*sche Eisenhämatoxylin noch gut verwendbar. Außer Kernen färbt sich, aber gering, auch das Protoplasma mit; will man reine Kernfärbungen haben, so kann man progressiv oder besser regressiv verfahren, d. h. man überfärbt und differenziert in 1—2 %iger Lösung von Salzsäure in 70%igem Alkohol oder auch in 1 %iger Alaunlösung, bis nur noch die Kerne gefärbt sind. Außer Kernen färben sich Kalk, Schleim und Eisen mit, Dinge, welche man morphologisch nicht mit den Kernen verwechseln kann.

Während bei den früher üblichen Hämatoxylinlösungen mit Alaunzusatz eine kräftige blaue Farbe nur nach langem Wassern entwickelt, man kann dies durch Zufügen von dünnem Ammoniak oder sonst eines Alkali beschleunigen, doch leidet darunter leicht die Protoplasmanebenfärbung; ist bei Anwendung des *Weigert*schen Eisenhämatoxylins sofort eine intensive

Färbung der Kerne gegeben. Ich möchte dies daher vor allen anderen Hämatoxylinlösungen empfehlen. Das *Weigert*sche Eisenhämatoxylin wird folgendermaßen hergestellt:

Lösung I: Hämatoxylin . . . 1 *g*,
96%iger Alkohol . 100 *cm*³.
Lösung II: Liquor ferri sesquichlorati
(spez. Gew. 1·124) . . 4 *cm*³,
Aqua dest. . . . . . 100 „ ,
konzentrierte Salzsäure . 1 „ .

Beide Lösungen aa. mischen.

Die Stammlösungen halten sich gut, das Gemisch färbt am besten vom 2. bis etwa 14. Tag.

Man färbt hierin einige Minuten (wenig oxydierte frische Lösungen färben langsamer als alte), differenziert trotz des Zusatzes der Salzsäure am besten doch noch kurz in Salzsäurealkohol (s. oben) und überträgt in Wasser.

Ähnlich färben auch Eisenhämatoxylinlösungen von *Hansen* (mittelst Ferri-Ammoniumsulfat hergestellt) und von *Benda*. Das *Heidenhain*sche Eisenhämatoxylin ist in Verbindung mit Sublimathärtung für viele Strukturen und Zelldetails vorzüglich.

Unter den Alaunhämatoxylinlösungen ist das beste wohl das *Ehrlich*sche saure Hämatoxylin, welches 2 *g* Hämatoxylin, 10 *cm*³ Eisessig, Alaun im Überschuß und je 100 *cm*³ absoluten Alkohol, Glyzerin und Wasser enthält. Früher viel verwandt wurde noch vor allem das älteste Hämatoxylin (1865) nach *Böhmer* (1 *g* Hämatoxylin in 10 *cm*³ absolutem Alkohol gelöst und 20 *g* Alaun in 200 *cm*³ Wasser gelöst, miteinander gemischt) und das *Delafield*sche Alaunhämatoxylin, welches Ammoniak, Alaun, Hämatoxylin, absoluten Alkohol, 96%igen Alkohol und Glyzerin enthält.

Man kann auch anstatt Hämatoxylin oxydieren zu lassen, dem oben Gesagten nach Hämateinlösungen herstellen und sofort benutzen. *Mayer* löst 1 *g* Hämatein in einem Liter destilliertem Wasser und setzt 0·2 *g* Natriumjodat und 50 *g* Alaun zu.

b) Karmin.

Das Alaunkarmin nach *Grenacher* schon aus dem Jahre 1879, bei dessen Herstellung etwa 1 *g* Karmin in 100 *cm*³ 1—5%iger wässeriger Alaunlösung gelöst wird, das Karmalaun nach *Mayer* und alkoholische Gemische, wie das *Grenacher*sche Boraxkarmin oder das Salzsäurekarmin nach *Mayer* sollen nur erwähnt werden. Empfohlen sei das

Lithionkarmin (*Orth*). Es werden 2·5—5 *g* Karmin in wässeriger kaltgesättigter Lösung von Lithion carbonicum 100 *cm*³ unter Aufkochen gelöst und filtriert. Man färbt hierin 2—5 Minuten, differenziert, ohne erst in Wasser abzuspülen, ½—1 Stunde in Salzsäurealkohol und überträgt in

Wasser. Am schönsten wird die Farbe, wenn man etwa 10 Minuten in Karmin färbt und 12—24 Stunden mit Salzsäurealkohol differenziert. Für Kernvorfärbungen bei der Darstellung der elastischen Fasern nach *Weigert*, bei der Fibrinmethode nach *Weigert*, der *Gram*schen Bakterienfärbung etc. ist das Lithionkarmin in dieser Anwendung außerordentlich zu empfehlen.

II. Protoplasmafärbungen.

Solche werden fast nie allein vorgenommen, höchstens noch mittelst des *Honnegerschen* Ammoniak-Karmins; fast ausnahmslos handelt es sich um Protoplasmanachfärbung nach Kernfärbungen. Solche Kombination aber ist als Übersichtsbild stets vorzunehmen, nicht etwa nur eine isolierte Kernfärbung. Simultan werden Kern- und Protoplasmafärbungen fast nur mittelst Pikro-Karminen, wie solche von *Ranvier*, *Weigert*, *Thoma* etc. angegeben wurden, aber heute auch nur noch selten, vorgenommen. Aber auch hier ist es empfehlenswerter, nach der Kernfärbung mittelst Lithionkarmin eine Protoplasmafärbung sukzedan mit Pikrinsäure anzustellen. Man setzt hierbei am besten einige Tropfen gesättigte Lösung der Pikrinsäure in absolutem Alkohol dem zur Entwässerung dienenden absoluten Alkohol zu, spült die Kerne dann nochmals in reinem absoluten Alkohol ab, überträgt in Xylol etc.

Nach der am meisten üblichen Kernfärbung mittelst Hämatoxylin kann man mit Orange G. nachfärben, oder besser mit Eosin. Man überträgt dann die Schnitte in 1%ₒ eosinhaltigen 96%igen Alkohol, dann in absoluten Alkohol, Xylol etc. Während diese in den meisten Instituten noch üblichste Nachfärbungsart überall da, wo es auf Blut, bezw. Blutbestandteile in allererster Linie ankommt, für welche ja Eosin fast ein Spezifikum darstellt, sehr zu empfehlen ist, stelle ich persönlich die Hämatoxylin-Eosinfärbung der gleich zu besprechenden *van Gieson*-Färbung überaus nach. Das Eosin deckt sehr leicht alles mit Rot zu, und wenn auch feinere Abtönungen mit dünnen Lösungen zu erreichen sind, so fällt dies doch dem weniger Geübten fast stets weit schwerer als die komplizierter erscheinende *van Gieson*-Lösung. Letztere hat zudem den Vorteil, die verschiedensten Substanzen in greifbar differenzierten Farben darzustellen und so Differenzierungen zu erlauben, wie kaum eine andere Methode. Ich empfehle als allgemeine Übersichtsmethode die auch in der Anwendung überaus einfache und sichere Kombination des *Weigert*schen Eisenhämatoxylins mit *van Gieson*-Nachfärbung als die ohne jeden Vergleich beste, welche wir heute besitzen.

Die **van Gieson-Lösung** enthält: 1 *g* Säurefuchsin gelöst in 1000 ccm gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung. Die mit Hämatoxylin vorgefärbten Schnitte werden aus Wasser in diese Lösung auf 10—30 Sekunden eingebracht, dann durch Wasser gerade durchgezogen und in den 96%igen bezw. absoluten Alkohol eingelegt, nach wenigen Minuten in Xylol übertragen etc. Die Kerne erscheinen dann dunkelbraun (bei Eisenhämatoxylinanwendung besser als bei anderen Hämatoxylinen), das Bindegewebe ist

leuchtend rot gefärbt. Muskelfasern, quergestreifte wie glatte, intensiv gelb, desgleichen Fibrin und rote Blutkörperchen sowie Neuroglia (nur bei Anwendung von Eisenhämatoxylin), das Protoplasma gelb bis braun, hyaline Substanzen wechselnd teils gelb, teils orange oder rot: Kolloid z. B. orange, Amyloid gelb.

Eine Modifikation der *van Gieson*-Lösung stammt von *Hansen*.

III. Färbungen feinerer Kernstrukturen, vor allem Mitosen.

Hier steht als sicherste Methode an erster Stelle: Härtung in *Flemming*schem Gemisch und Nachfärbung in Safranin. Man färbt die Schnitte in 1%iger wässeriger Safraninlösung 12—24 Stunden, spült kurz in Wasser ab, differenziert kurz in absolutem Alkohol mit einigen Tropfen Salzsäure und überträgt in absoluten Alkohol bis nur noch die Mitosen, nicht mehr die ruhenden Kerne dunkelrot gefärbt sind, hellt in Xylol auf etc.

Noch stärker färbt ein von *Babes* angegebenes Anilinwasser-Safranin. Man kann auch statt mit Safranin mit Karbolfuchsin oder Methylviolett nachfärben oder ein Eisenhämatoxylin nach *Benda* oder *Mayer* verwenden.

Nächst der Kombination von Härtung in *Flemming*schem Gemisch und Nachfärben mit Safranin etc. ist zur Darstellung von Mitosen eine Fixierung in Sublimatlösungen bezw. *Zenker*scher Flüssigkeit und Nachfärbung entweder mittelst des *Ehrlich-Biondi-Heidenhain*schen Farbengemisches oder mit dem *Heidenhain*schen Eisenhämatoxylin, vor allem letzteres, zu empfehlen. Das *Ehrlich-Biondi-Heidenhain*sche Farbengemisch enthält Orange G, Methylgrün und Säurefuchsin in gesättigter wässeriger Lösung; am besten kauft man die Mischung in Pulverform von *Grübler* und löst 1—2 *g* in 100 *cm*³ destilliertem Wasser. Man färbt hierin 24 Stunden, wäscht in 90%igem Alkohol einige Minuten aus, entwässert kurz im absoluten Alkohol, überträgt in Xylol etc. Ruhende Kerne sind dann bläulich, Mitosen dunkelgrün, Protoplasma und Bindegewebe fuchsinrot, rote Blutkörperchen orange, Schleim grün, Fibrin rot dargestellt.

Sehr empfehlenswert ist Sublimathärtung und Färben mit *Heidenhain*schem Eisenhämatoxylin nicht nur für Mitosen, sondern überhaupt für feine Zellstrukturen. Hierbei bringt man die Schnitte in 1½—4%ige Lösung von (violettem) Eisenalaunsulfat oder Eisenammoniumsulfat für etwa 3 Stunden, wäscht gründlich in Wasser aus und färbt in gereifter ½%iger wässeriger Hämatoxylinlösung 24 Stunden. Nach gründlichem Auswässern wird in der bereits verwandten Eisenlösung differenziert, bis die Kernstrukturen sich bei mikroskopischer Kontrolle scharf abheben. Es wird gründlich, etwa 15 Minuten lang, gewässert, in absolutem Alkohol entwässert etc. Dieselbe Hämatoxylinlösung ist öfters zu verwenden, wird hierbei sogar noch besser.

Die Kernkörperchen färben sich im Gegensatz zum Kern mit sauren Farbstoffen und treten besonders bei starken Differenzierungen deutlich hervor. Bei der oben angegebenen Safraninfärbung sind sie meist

isoliert gefärbt: bei den Modifikationen der *Romanowsky*-Färbung treten sie rot in den blau gefärbten Kernen hervor.

IV. Färbungen der Altmannschen Granula etc.

Zur Färbung der *Altmann*schen Granula dient vor allem einmal die Methode von *Altmann*, sodann ihre Modifikation von *Schridde*.

Altmann fixiert sehr kleine Stückchen in einem Gemisch zu gleichen Teilen von:

> 2·5%ige Lösung von Kalium bichromicum und
> 2%ige Lösung von Überosmiumsäure

24 Stunden. Es wird sodann in Wasser längere Zeit gewaschen, in Alkohol nachgehärtet und in Paraffin eingebettet.

Die aufgeklebten entparaffinierten Schnitte kommen aus dünnem Alkohol in:

Säurefuchsin . . .	20 *g*,
Anilinwasser . . .	100 *cm*³.

(Um Anilinwasser herzustellen setzt man einen Überschuß von Anilinöl zu Wasser, schüttelt gut durch, läßt stehen und filtriert.) Hierin wird unter Erwärmen gefärbt bis Dämpfe aufsteigen. Nach dem Erkalten wird differenziert in:

Gesättigte alkoholische Pikrinsäurelösung . .	1 Teil,
20%iger Alkohol	7 Teile.

Die Pikrinsäurelösung wird erneuert und unter vorsichtigem Erwärmen bis zu 42°, am besten im Brütschrank, etwa 1 Minute differenziert, bis die Schnitte einen hellgelblich-roten Ton haben. Es wird sodann in absolutem Alkohol entwässert, in Xylol aufgehellt etc. Die *Altmann*schen Granula sind dann rot, wenn sie fetthaltig sind schwarz (Osmiumsäure) gefärbt.

Schridde verfährt folgendermaßen: Er fixiert lebenswarme Objekte in der *Orth*schen Flüssigkeit 24 Stunden lang (man kann auch in Formol fixieren, muß dann aber die Schnitte später mit 5%iger Kalium bichromicum-Lösung beizen). Nach 24stündigem Wässern in oft zu wechselndem destillierten Wasser werden die Stücke 24 Stunden lang in 1%ige Osmiumsäure im Dunkeln eingelegt, dann 12 Stunden in fließendem Wasser gewaschen, in von 50%igem bis absolutem steigenden Alkohol im Dunkeln nachgehärtet und mittels Chloroform als Intermedium in hartem Paraffin (58° Schmelzpunkt) eingebettet. Sehr dünne Schnitte werden aufgeklebt, entparaffiniert und langsam durch immer schwächer werdenden Alkohol bis in destilliertes Wasser übertragen. Dann werden sie wie von *Altmann* angegeben gefärbt und differenziert, indem man am besten die Lösungen auf den Objektträger aufbringt.

Die verschiedensten Zellgranula sind dann in unter sich vollkommen verschiedenen Tönungen dargestellt, so die neutrophilen Granula bläulich-rot, eosinophilen Granula schwarzrot, Plasmazellen ziegelrot, Mastzellen-

granula schwarzgrau, vor allem enthalten die Lymphozyten bräunlichrot gefärbte Körnchen.

Wichtig ist auch die sogenannte Oxydasereaktion nach *Winkler-Walther Schulze.* Man braucht hierbei folgende zwei Lösungen:

1. 1 *g* α-naphthol wird in 100 *cm*³ destilliertem Wasser zum Sieden erhitzt. Das α-naphthol schmilzt und schwimmt in dem Wasser; man gießt dann reine Kalilauge zu, bis alles Naphthol gelöst ist, meist etwa 1 *cm*³.

2. 1% wässerige Lösung von Dimethyl-p-Phenylendiamin *(Merck)*: bei Zimmertemperatur herstellen und filtrieren.

Die Schnitte werden für einige Minuten erst in Lösung 1, dann in Lösung 2 unter leichtem Hin- und Herbewegen gebracht, in destilliertem Wasser abgespült und in diesem untersucht. Man kann auch in Glyzerinleim einschließen. Die die Oxydasereaktion aufweisenden Körnchen sind tiefblau (Indophenol) gefärbt. Am wichtigsten ist die Methode zur Unterscheidung der Leukozytenreihe von der Lymphozytenreihe: alle Zellen ersterer geben die Oxydasereaktion, die letztere nicht.

Sehr gut ist die *Fursenko*sche Modifikation zur Herstellung von Dauerpräparaten. Man fixiert in *Kaiserling*scher Lösung 48 Stunden, wäscht 12 Stunden in fließendem Wasser aus, härtet ganz kleine Stückchen in steigendem Alkohol je 10 Minuten, hellt in

Alkohol abs. plus Xylol ana,
Alkohol abs. 1 plus Xylol 2,
Alkohol abs. 1 plus Xylol 4,
Alkohol abs. 1 plus Xylol 8,

je 10 Minuten auf und durchtränkt nach Verwendung von Xylol plus Paraffin sehr schnell mit Paraffin. Schnitte werden dann wie oben angegeben mit den beiden Lösungen behandelt, in 90%igem und in absolutem Alkohol entwässert, in Xylol aufgehellt und in ganz neutralem Kanadabalsam eingeschlossen. Man kann auch nach der Oxydasereaktion die Kerne z. B. mit dem Methylgrün-Pyroninverfahren (siehe unten) nachfärben. Hat man in Formol gehärtetes Material, so schneidet man am besten auf dem Gefriermikrotom und unterwirft die Schnitte jetzt der Oxydasereaktion direkt, um sie dann auch in absolutem Alkohol zu entwässern, in Xylol aufzuhellen und in Kanadabalsam einzuschließen.

Die *Galeotti*sche Methode für Granula sezernierender Epithelien, sowie die von *Russel*, *Pianese* etc. angegebenen Methoden zur Darstellung der Zelleinschlüsse, der sogenannten *Russel*schen Fuchsinkörper und die von *Holmgren* angegebenen Methoden zur Darstellung seiner Trophospengienkanälchen können hier nur erwähnt werden.

B. Farbmethoden für Interzellularsubstanzen.

Hier kommen in erster Linie das Bindegewebe mit seinen Fibrillen, in zweiter Linie die elastischen Fasern in Betracht.

I. Bindegewebe.

Das Bindegewebe färbt sich mit der *van Gieson*-Methode außerordentlich gut. Spezifische Methoden zur Darstellung auch der feinsten

Fibrillen stammen vor allem von *Mallory*, *Ribbert*, *Hüter*, *Bielschowsky* und *Verocay*.

Die *Ribbert*sche Methode ist eine Modifikation des *Mallory*schen Phosphormolybdänsäure-Hämatoxylinverfahrens. Dies ist wiederum von *Schueninoff* für Fibrin und diese Methode von *Hüter* wiederum für Bindegewebe modifiziert worden. Statt Phosphormolybdänsäure wird hier Phosphorwolframsäure verwandt.

Eine sehr schöne Bindegewebsfärbung zugleich mit Darstellung zahlreicher anderer Strukturen stellt die *Mallory*sche Anilinblau-Orange-G-Methode (besonders in ihrer letzten *Mallory*schen Modifikation) dar. Diese Methode ist auch vielfach, so von *Löwenstein*, *Loeb* etc., modifiziert worden, doch scheint mir die Originalmethode ebenso gut. Ein Nachteil der *Mallory*schen Methode besteht allerdings darin, daß sie gut nur bei Sublimatfixierung gelingt; doch kann man sie auch nach Formolhärtung noch anwenden, wenn man die Schnitte vor der Färbung einige Stunden in Sublimatlösung beizt — sie gelingt dann auch an Gefrierschnitten gut — oder die neue Modifikation von *Ogata* verwendet. Ein weiterer Nachteil der *Mallory*schen Methode ist die schlechte Färbung der Kerne; zur Behebung dieses Nachteiles empfehle ich die Schnitte zu allererst in Lithionkarmin mit Salzsäurealkohol-Differenzierung vorzufärben.

Allerfeinste Bindegewebsfibrillen werden aber meiner Erfahrung nach gut nur mittelst der *Verocay*schen Hämatoxylinmethode, welche den Vorteil der Einfachheit für sich hat, aber in ihren verschiedenen Zeitdauern erst ausprobiert werden muß, und ganz besonders mittelst der zuerst für das Nervensystem angegebenen *Bielschowsky*schen Methode (in ihrer Anwendung für Bindegewebsfärbung auch zuweilen nach *Maresch* benannt) gut dargestellt. Die *Bielschowsky*sche Methode ist hier in allererster Linie trotz ihrer Kompliziertheit sehr zu empfehlen.

Ich lasse nun diese drei wichtigen Methoden, nämlich die *Mallory*sche, die *Verocay*sche und die *Bielschowsky*sche, kurz folgen.

Mallory-Methode.

Die Schnitte kommen in 1/10%ige wässerige Säurefuchsinlösung auf 5—15 Minuten, werden kurz in Wasser abgespült und dann 20 Minuten (nach meiner persönlichen Erfahrung besser nur etwa 1 Minute) in folgender Lösung nachgefärbt:

Anilinblau	. . .	0·5 *g*.
Orange G	. . .	2·0 *g*.

1%ige wässerige Phosphormolybdänsäurelösung 100 *cm*³ (Glas- oder Platinnadeln verwenden!).

Sodann wird etwa 20 Minuten in mehrfach zu wechselnden 96%igen Alkohol, dann zum Entwässern in absoluten Alkohol, in Xylol etc. übertragen.

Die Bindegewebsfibrillen und das Reticulum, ferner Amyloid und hyaline Substanzen, sowie Schleim besonders im Magen sind leuchtend

blau. Kerne rötlich. Achsenzylinder. Neuroglia, glatte Muskelfasern. Fibrin. Horn rot. elastische Fasern. Keratohyalinkörner. Blutkörperchen hellrot. Protoplasma violettrot, Markscheiden gelblichrot gefärbt.

Verocay-Methode.

Fixation beliebig. Gefrierschnitte, Zelloidin- oder Paraffinschnitte; die Schnitte müssen aufgeklebt werden. Zuerst müssen sie gründlich gewässert werden. sodann werden sie in 1%iger wässeriger Chromsäurelösung bei 46 Grad 10—24 Stunden oder noch länger gebeizt. wiederum gründlich gewässert und ½—2 Stunden in nicht zu altem *Delafield*schem Hämatoxylin gefärbt. in absolutem Alkohol entwässert etc. Man kann auch eine Kontrastfärbung mit Orange G, Pikrinsäure etc. vornehmen. Die Schwierigkeit der Methode liegt darin. daß für jede Härtung und für jedes Organ eine andere Zeitdauer der Beizung nötig ist. Lange in Formol aufgehobene Präparate müssen z. B. etwa 36stündigem Beizen unterworfen werden.

Bielschowsky-Methode.

Man filtriert am besten in Formol und fängt dünne Gefriermikrotomschnitte in destilliertem Wasser auf. Sie werden 24—48 Stunden in 2—3%iger Lösung von Argentum nitricum versilbert und nach ganz kurzem Durchziehen durch destilliertes Wasser in folgende Lösung übertragen: Man setzt zu 10 cm^3 10%iger Argentum nitricum-Lösung 5 Tropfen möglichst reiner 40%iger Natronlauge. Der sich hierbei bildende Niederschlag wird durch tropfenweises Zusetzen von Ammoniak unter ständigem Umrühren mit einem Glasstab bis zur völligen Klärung (aber nicht weiter) gelöst. Diese Lösung enthält die leicht reduzierbaren Silbersalze: Silberammoniumnitrat sowie Silberoxydammonium. Die Schnitte bleiben hierin 5—10 Minuten und werden nach Abspülen in destilliertem Wasser in 20%ige Formollösung, in welcher sie einige bis 20 Minuten bleiben. zur Reduktion übertragen. Das dieser Reduktion vorangehende Abspülen in Wasser dient als eine Art Differenzierung. welche also je länger man die Schnitte in destilliertem Wasser läßt. um so stärker ist. Statt die mit reduziertem Silber versehenen Schnitte mikroskopisch zu betrachten. führt man die Versilberung besser in eine Vergoldung über, wobei sich das Gold gerade an den versilberten Strukturen niederschlägt. Man überträgt zu diesem Zwecke die Schnitte nach kurzem Wässern in 10 cm^3 destilliertes Wasser. welches etwa 5 Tropfen 1%ige Goldchloridlösung enthält auf etwa 10 Minuten und legt die Schnitte sodann ½—1 Minute in 5%ige Fixiernatronlösung zur Entfernung des etwa noch nicht reduzierten Silbers, wäscht gründlich in Wasser aus. entwässert in absolutem Alkohol und hellt in Xylol auf etc.

Auch empfiehlt *Bielschowsky* die Gefrierschnitte vor der Versilberung aus dem destillierten Wasser 24—48 Stunden in Pyridin einzulegen. Solches verwendet er auch. wenn ganze Stücke versilbert und dann in Paraffin eingeschlossen werden sollen.

Wenn man die versilberten Schnitte, statt sie in destilliertem Wasser kurz zu differenzieren, in dünner Essigsäure differenziert, so sollen Bindegewebsfibrillen entfärbt werden, Neurofibrillen gefärbt bleiben, doch scheint mir diese Unterscheidung nach beiden Richtungen hin keine sichere, vielmehr ist die Morphologie der Fibrillen stets in erster Linie zu berücksichtigen.

II. Elastische Fasern.

Zur Darstellung der elastischen Fasern sind eine große Reihe von Methoden angegeben worden, unter welchen heute wohl nur noch auf der einen Seite die elastische Fasernflüssigkeit nach *Weigert*, auf der anderen Seite die *Unna-Tänzer*sche Methode mit Orceïn verwandt wird.

Die *Weigert*sche Methode ist ganz überaus sicher und elektiv, so daß man fast von einer mikrochemischen Reaktion sprechen kann. Zudem werden die Fasern prachtvoll blauschwarz dargestellt, und man kann darum, wenn man die Kerne mit Lithionkarmin färbt, sehr einfach brillante Kontrastfarben erzielen. Die *Weigert*sche elastische Fasernflüssigkeit enthält: Resorzin, Fuchsin, Liquor ferri sesquichlorati. Nach *Michaelis* und *Fischer,* welche sich mit der Theorie der Färbung beschäftigten, scheint der Liquor ferri als Oxydationsmittel zu wirken; das Eisenchlorid und das Resorzin bilden eine Beize, welche die Verbindung zwischen dem Fuchsin und dem elastischen Gewebe vermittelt. Statt des Resorcin kann man auch andere Phenole verwenden. Das Fuchsin wirkt nicht als solches, sondern es bildet sich eine neue Kombination bei der Herstellung der Farblösung, welche besondere Affinität zu dem elastischen Gewebe hat. Auch andere basische Farbstoffe, wie das Safranin, Vesuvin, sind zu verwenden. (*Fischer* bezeichnet die gewöhnliche Lösung als Fuchselin, die anderen Lösungen als Safranelin, Vesuvelin etc.) Ist also auch die von *Weigert* angegebene Kombination die bestfärbende, so läßt sich doch eine Reihe von Modifikationen erzielen, was wichtig ist, wenn man gleichzeitig auf elastische Fasern und Tuberkelbazillen (wofür ich, *Schmorl* etc. Methoden angegeben haben), oder auf elastische Fasern und Fibrin bzw. Bakterien (Methode von *Fischer*) oder auf elastische Fasern und Fett (ebenfalls Methoden von *Fischer* sowie von mir) färben will. Diese elastische Fasernmethode von *Weigert* scheint mir auch derjenigen von *Unna* aus den genannten Gründen überaus vorzuziehen. Beide Methoden sollen jetzt kurz angeführt werden.

Erwähnt sei noch, daß die elastischen Fasern und gleichzeitig die sogenannten *Dürck*schen Fasern der Gefäße nach der Markscheidenmethode *Weigerts* und deren Modifikationen darstellbar sind. Das *Unna*sche Elacin, d. h. basophil reagierendes Elastin wird nach Methoden *Unnas* dargestellt.

Weigerts elastische Fasernmethode.

Die benötigte Farblösung wird folgendermaßen hergestellt:

In einem Porzellangefäß mischt man: Resorzin 1 *g*, Fuchsin (*Grübler*) 2 *g*, Wasser 200 cm^3. Man kocht und fügt, nachdem die Lösung in völliges Kochen geraten ist, 25 cm^3 Liquor ferri sesquichlorati (Pharm. Germ. III spez. Gew. 1·1) zu.

Unter gutem Umrühren läßt man noch 5 Minuten kochen. Der hierbei gebildete Niederschlag wird nach dem Erkalten der Lösung abfiltriert. Das Filtrat wird fortgegossen und das Filter mit seinem Niederschlag vorsichtig von dem Trichter abgehoben und in das bereits gebrauchte Porzellangefäß gebracht (welches am Rande noch inzwischen trocken gewordene Spuren des Niederschlages enthält). Es werden 200 *cm*³ 94%iger Alkohol darüber gegossen und unter tüchtigem Umrühren gekocht. Hierbei löst sich der Niederschlag, und das von ihm befreite Fließpapier wird allmählich herausgefischt und weggeworfen. Die Lösung läßt man sodann erkalten und filtriert, füllt das Filtrat mit 94%igem Alkohol auf 200 *cm*³ auf und fügt noch 4 *cm*³ Salzsäure hinzu. Die Lösung ist sofort gebrauchsfertig und hält sich auch gut, doch färben allzu alte Lösungen zu diffus.

Die Ausführung der Methode ist höchst einfach. Eventuell mit Lithionkarmin vorgefärbte Schnitte kommen in die *Weigert*sche Lösung auf 20 Minuten bis 1 Stunde, werden kurz durch Salzsäurealkohol durchgezogen und in absolutem Alkohol längere Zeit entwässert und differenziert, in Xylol aufgehellt etc. Bei Zelloidinschnitten verwendet man statt des absoluten Alkohols 96%igen, zieht auf den Objektträger auf, bringt Xylol darauf und entwässert mechanisch mit Filtrierpapier, wie oben angegeben.

Eine Modifikation von *Hart* setzt 5 *cm*³ der *Weigert*schen Lösung 100 *cm*³ Salzsäurealkohol zu und legt die Schnitte zur gleichzeitigen Färbung und Differenzierung (sie kommen dann aus der Lösung sofort in absoluten Alkohol) auf 12—24 Stunden in die Lösung. Dauert die Methode auch länger, so ist sie doch noch einfacher.

*Unna-Tänzer*sche Methode.

Man färbt in:

Orcein D	1 *g*,
Salzsäure	1 *cm*³,
absoluter Alkohol . . .	100 *cm*³,

bei etwa 37 Grad ½ Stunde, und zwar so, daß nur wenig Flüssigkeit über dem Schnitt steht, so daß der Alkohol verdunstet und eine eingedickte Masse übrig bleibt. Man wäscht die Schnitte in 70%igem Alkohol aus, differenziert eventuell wenige Sekunden in Salzsäurealkohol, wäscht in Wasser nach, entwässert in absolutem Alkohol, hellt in Xylol auf etc. Die elastischen Fasern sind dunkelbraun. Man kann eventuell auch hier die Kerne mit Lithionkarmin vorfärben.

Eine komplizierte Modifikation der Methode stammt von *Fränkel*.

C. Farbmethoden für besondere unter normalen und pathologischen Bedingungen vorhandene Stoffe.

Hier seien in erster Linie

I. Fette und Lipoide

genannt.

Fettfärbungen werden von Alters her mittelst der Osmiumsäure vorgenommen, so z. B. mit den schon erwähnten Gemischen nach *Flemming* oder *Marchi*. Die Wirkung beruht auf einer Reduktion des Osmiumtetraoxyds ($Os\,O_4$) zu Osmiumoxyd ($Os\,O_2$), doch tritt die Reaktion rein nur bei Oleïn und Ölsäure auf, Palmitin und Stearinsäure schwärzen sich aber häufig bei Nachbehandlung mit Alkohol auch noch „sekundär" infolge der Umwandlung von $Os\,O_4$ in $Os\,(OH)_4$. Da Xylol bei der Paraffineinbettung auch osmiumsäuregefärbtes Fett noch auszieht, ist es besser, Chloroform oder Schwefelkohlenstoff zu verwenden. Besser ist es aber noch, Gefriermikrotomschnitte anzufertigen und diese in Glyzerin-Gelatine oder eventuell nach ganz kurzem Entwässern in absolutem Alkohol und Aufhellen in Benzol in geschmolzenen reinen Kanadabalsam einzuschließen. Am besten osmiert man doppelt, und zwar indem man in *Flemming*schem Gemisch fixierte Stücke nach dem Schneiden auf dem Gefriermikrotom in wässeriger Osmiumsäurelösung 24 Stunden im Dunkeln nachfärbt, gründlich auswässert, eventuell die Kerne mit Safranin rot färbt, zur „sekundären" Schwärzung (siehe oben) 6—12 Stunden in absoluten Alkohol legt und nun wie oben weiter behandelt.

Allein die Osmiumsäure ist trotz alledem unzuverlässig, da sie auch Dinge, welche keine Fette sind, so Gerbsäure, schwärzt und auf der anderen Seite nicht alles Fett darstellt. Sie ist infolgedessen gegenüber den viel einfacher zu handhabenden und sicheren Fettfärbungen mit Azofarbstoffen größtenteils verlassen worden. Als solche Azofarbstoffe kommen das Sudan III und das 2 CH_3-Gruppen mehr enthaltende Scharlach R (Fettponceau) zur Verwendung. Nach Formolhärtung werden Gefrierschnitte in konzentrierte Lösung des einen oder anderen dieser Farbstoffe (von denen ich Scharlach R vorziehe) in 70%igem Alkohol auf etwa 20 Minuten eingelegt und nach Durchziehen durch 70%igen Alkohol in Wasser gebracht. Man kann dann die Kerne mit Hämatoxylin leicht anfärben wieder in Wasser (eventuell zur Blaufärbung der Kerne mit Zusatz von etwas Ammoniak) bringen und die Schnitte aus diesem aufziehen und in Glyzerinleim einschießen. Da diese Lösungen des Sudan III und des Scharlach R aber nicht sehr kräftig färben, da sie nicht hochgradig konzentriert sind, kann man entweder in kochendem Alkohol den Farbstoff lösen und die Lösung bei 37 Grad aufbewahren und auch bei dieser Temperatur färben (nach *B. Fischer*) oder aber eine der beiden folgenden weit stärkeren von mir angegebenen Lösungen verwenden. Das Verfahren ist dann wie oben beschrieben, nur muß man die Schnitte aus 70%igem Alkohol in die sehr konzentrierte Farblösung übertragen; man braucht dann in dieser nur wenige Minuten zu färben, spült kurz in 70%igem Alkohol ab und bringt die Schnitte dann in Wasser. Von den beiden Farblösungen ziehe ich die zweite vor und verwende sie täglich.

Alkohol abs. . . . . . . 70 cm^3,
Wasser . . . . 10 cm^3,
10%ige Natronlauge . . 20 cm^3.

hierin gesättigte Lösung von Scharlach R eventuell in der Wärme oder:

70°/₀iger Alkohol . . . 50 *cm*³,
reines Aceton . . . . 50 *cm*³,

hierin gesättigte Lösung von Scharlach R.

Da beide Lösungen überaus leicht verdunsten, muß man die Gefäße gut verschlossen bzw. zugedeckt halten; am besten filtriert man nicht die Lösung zum Gebrauch, sondern dekantiert.

Zur Darstellung des Fettes in Sekreten und Exkreten zentrifugiert oder sedimentiert man dieselben mit der gesättigten Lösung von Scharlach R in 70°/₀igem Alkohol *(Rieder)* oder mit dieser Scharlach R-Lösung 2 Teile, 10°/₀iges Formol 1 Teil *(Levinsohn)*. Zur Färbung von Deckglaspräparaten wendet man die azetonhaltige Scharlach R-Lösung besser als die alkalische an, da letztere infolge der Quellung ein Ablösen der Massen herbeiführen kann *(Michaelis)*.

Eine Färbung des Fettes kann auch mit einer konzentrierten wässerigen Lösung von Nilblausulfat (ganz so anwenden wie Sudan) nach *Lorrain-Smith* bewirken. Die Methode ist zwar weit weniger sicher und präzise, läßt aber, indem die Neutralfette rot, Lipoide z. T. blau gefärbt sind, diese bis zu einem gewissen Grade, wenn auch nicht sehr sicher, unterscheiden.

Lipoide und Myeline.

Hier handelt es sich einmal um P- und N-freie Substanzen, besonders Cholesterin, Cholesterinfettsäureester, Fettsäuren und Seifen; dann N-haltige aber P-freie Substanzen, die Cerebroside (Phrenosin) und endlich N- und P-haltige Phosphatide besonders Kephalin und Sphingomyelin sowie Gemische.

Zur Unterscheidung dieser Substanzen voneinander und von den Neutralfetten sind besondere Methoden angegeben worden. Diese Methoden sollen hier kurz wiedergegeben werden, ihre Anwendung auf die einzelnen Substanzen kann aber hier nicht behandelt werden. Es sei vor allem auf *Kawamura* „Die Cholesterin-Esterverfettung", Jena 1911, verwiesen.

Außerordentlich wichtig ist hier zunächst die Anwendung des Polarisationsmikroskops für Feststellung von Doppeltbrechung. Die doppeltbrechenden Tropfen färben sich mit Sudan III, bzw. Scharlach R, aber nicht so stark wie Neutralfette. Bei der Härtung gehen die Tropfen zum Teil in Kristalle über, welche sich nicht färben lassen. Die Tropfen zeigen nach der Härtung keine Doppeltbrechung mehr, die Kristalle noch solche. Will man mit Osmiumsäure schwärzen, so muß man, um dies vollständig zu erreichen, eine sekundäre Osmierung durch langes Liegenlassen in Alkohol vornehmen. Die Osmiumsäure zerstört die Doppeltbrechung dauernd. Osmiumgefärbte, doppeltbrechende Substanzen lösen sich im Gegensatz zu Neutralfetten wieder leicht und ganz in Xylol, Chloroform, Bergamotteöl. Nach *Versé* zeigen Zupfpräparate, wenn man vom Rande des Deckgläschens aus Ätheralkohol und nach einiger Zeit einen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure zusetzt, an der Grenze beider Flüssigkeiten im

polarisierten Licht, wenn Lipoide vorhanden sind, ein lebhaftes Aufperlen von doppeltbrechenden Kügelchen.

Methode von *Fischler*.

Kristalle der freien Fettsäuren werden mit Kupfer gebeizt, mit Hämatoxylin in einen schwarzen Lack übergeführt. Die Methode, eine Modifikation der *Benda*schen für Fettgewebsnekrosen im Pankreas, dient daher besonders zur Darstellung von Fettsäuren. Gefrierschnitte nach Formolhärtung werden 2—24 Stunden in konzentrierter wässeriger Lösung von essigsaurem Kupfer gebeizt und nach Wässern in destilliertem Wasser in einer Mischung aa. folgender beider Lösungen (welche gemischt erst einige Tage stehen müssen) gefärbt:

I:	Hämatoxylin	5 *g*,
	absoluter Alkohol	10 cm^3,
II:	Aqua dest.	9 „ ,
	konzentrierte wässerige Lithion carbonicum-Lösung	1 „ .

Man färbt hierin mindestens 20 Minuten. Es wird sodann in dem *Weigert*schen Markscheiden-Differenzierungsgemisch so lange differenziert, bis die roten Blutkörperchen entfärbt sind. Nach gründlichem Wässern in destilliertem Wasser wird in absolutem Alkohol entwässert etc. Man kann auch die Neutralfette mit Scharlach R gleichzeitig gegenfärben. Außer den Fettsäuren sind Eisen und Kalk schwarz dargestellt.

Seifen kann man durch Zusatz von Calcium salicylicum zu der zur Fixation dienenden Formollösung in unlösliches fettsaures Kalzium überführen und dann ebenfalls nach obiger Methode behandeln.

Fettsaurer Kalk löst sich nicht in Salzsäure wie der gewöhnliche Kalk, auch nicht in Alkohol-Äther wie die Fettsäuren, hingegen in mit Salzsäure angesäuertem solchen.

Methode von *Ciaccio*.

Kleine Stücke werden eventuell nach Formolfixation 2 Tage in folgender Lösung fixiert:

5%ige wässerige Kalium bichromicum-Lösung .	80 Teile,
40%iges Formol	20 „ ,
Essigsäure	10—15 Tropfen,

sodann gelangen die Stücke für 5—8 Tage in 3%ige wässerige Lösung von Kalium bichromicum, werden 24 Stunden in fließendem Wasser gewässert, in steigendem Alkohol entwässert, in Paraffin eingebettet und geschnitten. Die aufgeklebten und entparaffinierten Schnitte werden in gesättigter Scharlach R-Lösung in 70%igem Alkohol etwa ½ Stunde, am besten bei 37° oder in einer Azeton-Alkohollösung des Farbstoffes gefärbt, durch 70%igen Alkohol durchgezogen, in Wasser übertragen, die Kerne mit Hämatoxylin nachgefärbt, wieder in Wasser übertragen und in

*Apathy*schen Gummisirup eingeschlossen, welcher am besten (nach *Kasarinoff*) folgendermaßen hergestellt wird:

Gummi arab. . . . . 50 cm^3.
Rohrzucker . . . . 20 g.
Wasser . . . . . 50 cm^3.
Thymol . . . . . 0·05 g,
bei 55° filtrieren.

Die von *Ciaccio* Lezithin genannten Tröpfchen und Körnchen werden orange-gelb-rot gefärbt.

Methode von *Lorrain-Smith (Dietrich).*

Die Methode beruht darauf, daß zwar auch Fette bei Beizung mit Kalium bichromat-Lösung und Hämatoxylinfärbung schwarze Lackbildung eingehen, dies aber bei Cholesterin-Fettsäuremischungen sehr viel schneller eintritt.

Gefrierschnitte nach Formolhärtung werden in gesättigte wässerige Kalium bichromat-Lösung 24—48 Stunden eingelegt und nach kurzem Wässern für 4—5 Stunden übertragen in essigsaures Hämatoxylin nach *Kulschitzky:*

Hämatoxylin in etwas Alkohol gelöst 1 g,
2%ige Essigsäure . . . . 100 cm^3.

Man differenziert dann in dem *Weigert*schen Markscheiden-Differenzierungsgemisch, wässert und schließt ein und untersucht in Lävulosesirup.

Cholesterin, an seinen rhombischen Kristallen leicht kenntlich, bräunt sich mit Jod, eine Farbe, welche nach Zusatz von Schwefelsäure blau und endlich rot wird; man kann dies unter dem Mikroskop verfolgen. Schwefelsäure allein, besonders bei leichtem Erwärmen, färbt die Kristalle gelb und dann braunrot. Man kann auch nach *Golodetz* 5 Teile Schwefelsäure plus 2 Teilen 30%iges Formol verwenden.

II. Schleim.

Schleim kommt unter normalen wie pathologischen Bedingungen vor. Die Muzine sind nicht in Wasser löslich, sondern quellen in ihm, werden aber durch Essigsäure (zum Unterschied von den Pseudomuzinen) und Alkohol fädig und flockig ausgefällt. Alkoholausfällung wird durch Wasserzusatz wieder aufgehoben; in alkalischen Flüsssigkeiten lösen sich Mucine leicht. Man untersucht zunächst am besten frisch im Wasser unter Zusatz von Essigsäure.

Schleim färbt sich bei mancherlei Methoden mehr oder weniger freiwillig mit, so mit Hämatoxylin, *Weigerts* Fibrin- und elastischer Fasernmethode blau. Er reagiert meist sauer und läßt sich mit basischen Anilinfarben färben.

Unter den spezifischen Schleimfärbungen stehen die Metachromasien mit gewissen Anilinfarben, so mit Thionin und poly-

chromem Methylenblau an erster Stelle. Für die *Hoyer*sche Thioninmethode härtet man am besten in Sublimatlösung und bettet dann ein. Auch die Schnitte werden noch 3—5 Minuten in 5%ige wässerige Sublimatlösung eingetaucht, sodann in Alkohol oder Wasser abgespült und in dünner Thioninlösung (etwa 2 Tropfen heißgesättigte wässerige Thioninlösung auf je 5 cm^3 Wasser) 5—15 Minuten gefärbt, in 90%igem Alkohol abgespült, in absolutem Alkohol entwässert etc. Kerne sind blau Schleim rot gefärbt; desgleichen Mastzellengranula, Knorpel und Amyloid. Untersucht man in Wasser oder Glyzerin, so tritt die Rotfärbung des Schleims noch deutlicher hervor.

Für die polychrome Methylenblaumethode nach *Unna* härtet man am besten in Alkohol, bettet ein, färbt 10 Minuten in der Farblösung, spült in leicht angesäuertem Wasser ab, legt die Schnitte 1/2 Minute in 10%ige Kalium bichromicum-Lösung, wässert sie, zieht auf den Objektträger auf, trocknet mit Filtrierpapier ab, differenziert etwa 1/2 Minute in Anilinöl mit 1%igem Zusatz von Salzsäure, entwässert in absolutem Alkohol etc. Färbungsresultat ähnlich wie bei der Thioninmethode.

Des weiteren kann man die eigens zur Schleimfärbung dienenden Muzihämateïn- oder Muzikarminmethoden nach *Mayer* gut anwenden. Man härtet in Alkohol, färbt in der betreffenden Lösung 5—10 Minuten, wäscht die Schnitte aus, entwässert sie etc. Das Muzihämateïn hat folgende Zusammensetzung:

Hämatein . . .	0·2 *g*,
Chloraluminium .	0·1 *g*,
Glyzerin . . .	40 cm^3,
Wasser	60 „ .

Man verreibt zu Beginn das Hämatein mit einigen Tropfen Glyzerin.

Quillt der Schleim stark, so verwendet man besser folgende Zusammensetzung:

Hämatein	0·2 *g*,
Chloraluminium . . .	0·1 *g*,
70%iger Alkohol . . .	70 cm^3,
Salpetersäure . . .	1—2 Tropfen.

Nur der Schleim wird und zwar blau gefärbt; Kerne kann man mit Karmin vorfärben.

III. Amyloid.

Auch das Amyloid, welches nur unter pathologischen Bedingungen vorkommt, ist außer durch seine bekannte Jodreaktion durch Metachromasien mit Anilinfarben ausgezeichnet.

Für die Jodreaktion nimmt man am besten die *Lugol*sche Lösung eventuell unter Zusatz von 25% Glyzerin. Man färbt etwa 5 bis 10 Minuten. Man kann auch die Kerne, z. B. mit *Mayer*schem alkoholischem Karmin (*Lubarsch*) vorfärben. Nach Wassern untersucht man in Glyzerin

oder schließt in Glyzerin-Gelatine ein. Man kann aber auch nach der *Langhans*schen Methode für Glykogen (s. unten) verfahren. Das Amyloid färbt sich mit Jod mahagonibraun, während alles andere gelb gefärbt ist. Läßt man nach der Einwirkung des Jod, etwa unter dem Deckglas, noch einen Tropfen Schwefelsäure einwirken, so tritt eine Blaufärbung ein. Eine ähnliche Jod-Schwefelsäurereaktion geben noch Cholesterin, Zellulose und Corpora amylacea.

Unter den Anilinfarben, welche durch Metachromasie mit Amyloid letzteres charakterisieren, sind Methylviolett, polychromes Methylenblau, Methylengrün, Jodgrün, Thionin zu nennen.

Am besten und verbreitetsten ist die erste dieser Methoden nach *Jürgens*. Man färbt die Schnitte, am besten Gefrierschnitte, in $^1/_2$%iger wässeriger Methylviolettlösung eine bis mehrere Minuten, wässert die Schnitte, differenziert sie eine bis mehrere Minuten in 2%iger Essigsäurelösung, wässert und untersucht in Glyzerin oder Lävulose oder schließt in Glyzerin-Gelatine ein. Während das Gewebe im allgemeinen sich blauviolett färbt, tritt das Amyloid rot hervor. Doch färben sich auch andere Substanzen wie Schleim, Mastzellengranula leicht mit. Eine Einbettung in Kanadabalsam ist schwerer zu erreichen und verblaßt meist schnell.

Wegen seines Gehaltes an Fetten färbt sich das Amyloid bei Anwendung von starken Sudan III- bzw. Scharlach R-Lösungen rötlich.

IV. Glykogen.

Dieses normal überaus verbreitete und auch unter pathologischen Bedingungen vorkommende Kohlehydrat ist in der Regel nur gut darzustellen, wenn in absoluten Alkohol gehärtet, d. h. jede lösende Flüssigkeit vermieden wird. Das Glykogen zersetzt sich aber nach dem Tode meist sehr schnell. Es wird in Speichel leicht gelöst, gibt die Jodreaktion, aber die Jodschwefelreaktion (im Gegensatz zum Amyloid) nicht.

Auch bei der Jodreaktion muß darauf geachtet werden, daß jedes Wasser vermieden wird. Methoden sind z. B. von *Ehrlich*, *Langhans*, *Barfurth* etc. angegeben worden. Zu empfehlen ist die *Ehrlich*sche Methode. Man bringt hier nach Härtung in absolutem Alkohol und Paraffineinbettung Schnitte auf den Objektträger und bedeckt sie mit einem Tropfen folgender Lösung, deckt sodann das Deckgläschen darauf und untersucht. Die Lösung enthält: 1 Teil *Lugol*sche Lösung, 100 Teile Gummi arabicum.

Deckgläschentrockenpräparate kann man Joddämpfen aussetzen.

Unter den sonstigen Methoden seien diejenigen von *Lubarsch* (Modifikation der *Weigert*schen Fibrinmethode), *Mayer* etc. erwähnt, die ausgezeichnete Methode von *Best* wiedergegeben.

Diese beruht darauf, daß manche Karminlösungen, wenn die Mischung eine gewisse Reife erlangt hat, das Glykogen färben. Man härtet in absolutem Alkohol und bettet vorteilhaft in Zelloidin ein; sodann verwendet man am besten folgende Lösung:

Karmin	2 g.
Kaliumkarbonat . .	1 g.
Chlorkalium . . .	5 g.
Aqua dest.	60 cm^3.

man kocht einige Minuten und setzt nach dem Erkalten 20 cm^3 Ammoniak zu. Die Lösung hält sich mindestens 1 Monat, im Winter meist zwei. Von dieser Karminlösung werden 20 Teile mit je 30 Teilen Methylalkohol und Ammoniak gemischt und Schnitte, welche am besten mit *Weigerts* Eisenhämatoxylin vorgefärbt sind, in der Lösung 10 Minuten, besser aber stundenlang gefärbt. Die Schnitte werden sodann in folgender Lösung differenziert:

Absoluter Alkohol . . .	40 Teile,
Methylalkohol	20 „ ,
Aqua dest.	50 „ ,

so lange, bis die Schnitte im ganzen hämatoxylinblau erscheinen, sie werden dann in 80%igem Alkohol abgespült, in absolutem Alkohol entwässert, in Xylol aufgehellt etc.

Das Glykogen ist rot, die Kerne sind blau gefärbt. Manchmal färben sich auch Mastzellengranula, Fibrin, Schleim, das Protoplasma der Magendrüsenzellen und nach Ameisensäureentkalkung kalkhaltig gewesene Knochenteile *(Schmorl)* rot mit.

V. Horn.

Das Horn färbt sich bei *van Gieson*-Färbung gelb, nach der *Weigert*schen Fibrinmethode blau und hält nach *Ernst* bei Nachbehandlung mit Salzsäurealkohol die blaue Farbe fest; mit Safranin färbt es sich leuchtend rot, bei der *Mallory*schen Orange G-Anilinblaumethode sowie mit der *Pasini*schen Methode rot bzw. orange.

Hier sollen noch einige wenige Färbungen auf Keratohyalin, Eleidin und, da ja das Horn an Plattenepithelien gebunden ist und bei diesen die Darstellung der sogenannten Protoplasmafasern besondere Bedeutung hat, Methoden für diese erwähnt werden.

Das Keratohyalin färbt sich mit Eisenhämatoxylin blau, mit Karmin rot. Eigene Methoden stammen von *Unna*, *Pasini*, *Fick*, *K. Herxheimer*.

Kurz angeführt werden soll die *Pasini*sche (Modifikation einer *Unna*schen) Methode.

Man härtet in Alkohol, bettet ein und beizt Schnitte in 2%iger Lösung von Phosphorwolframsäure 10 Minuten. Man färbt dann 15—20 Minuten in folgender Mischung:

*Unna*sche Wasserblau-Orzeïnmischung (welche am besten von *Grübler* zu beziehen ist)	10 Tropfen
2%ige Eosin B. A.-Lösung in 50%igem Alkohol . .	12 „
gesättigte wässerige Säurefuchsinlösung	1 „
neutrales Glyzerin	

Man färbt hierin 15—20 Minuten, wässert in destilliertem Wasser, differenziert in absolutem Alkohol, überträgt die Schnitte noch einige Sekunden in 2%ige Phosphorwolframsäure, entwässert in absolutem Alkohol etc.

Das Protoplasma ist blau, Horn gelblichrot, Kerne, Keratohyalinkörner und Epithelfasern sind rot dargestellt. Das Farbresultat erinnert an dasjenige der *Mallory*schen Methode.

Eleidin färbt sich mit Karmin rot, aber im Gegensatz zum Keratohyalin nicht mit Hämatoxylin. Es schwärzt sich mit Osmiumsäure. Man kann es mehr spezifisch nach *Buzzi* in dünner Kongorotlösung oder nach *Dreysel* und *Oppler* in einem Gemisch von Karmin, Ätzammoniak und wässeriger Pikrinsäurelösung färben.

Epithelfasern färben sich mit der *Schridde*schen Modifikation der *Altmann*schen Methode (s. vorne), doch muß hierbei in der Regel lebenswarm eingebettet werden, rot. Sehr gut stellen sie sich auch mit der *Heidenhain*schen Eisenhämatoxylinmethode (s. ebenfalls vorne) sowie mit der *Pasini*schen Methode dar, des weiteren mit mehreren von *Unna* speziell angegebenen Methoden, unter welchen diejenige mit Wasserblau und Orzeïn zu erwähnen ist und endlich auch nach der *Kromayer*schen Methode, d. h. nach der *Weigert*schen Fibrinmethode, bei welcher man ein schwächeres Anilinölxylol, d. h. Anilinöl 1 Teil, Xylol 2—3 Teile zur Differenzierung benutzt.

VI. Pigmente (Eisen).

Unter diesen sind die eisenhaltigen Blutfarbstoffderivate in erster Linie zu nennen, da sie, d. h. das Eisen, am leichtesten darstellbar sind.

Für melanotische Pigmente ist es am besten nur eine Kernfärbung, am besten mit Karmin, vorzunehmen, das Protoplasma und Bindegewebe ungefärbt zu lassen, so daß die Eigenfarbe des Pigmentes scharf hervortritt. Auch soll man stets diese letztere im ungefärbten Schnitt kontrollieren. Mittelst einer Silbermethode, einerlei ob man die *Bielschowsky*sche oder *Levaditi*sche verwendet, lassen sich melanotisches Pigment, sowie dessen Leukovorstufen schwarz darstellen.

Die sogenannten Abnutzungspigmente (Lipochrome) geben Fettreaktion mit Osmiumsäure, Sudan III, Scharlach R. Das Luteïn der Luteïnzellen gibt auch nach Behandlung mit Alkohol-Äther Sudan III-, bzw. Scharlach R-Färbung und zudem die Reaktion der botanischen „Lipochrome", d. h. Grün-blau-färbung mit Schwefelsäure und ähnliche Reaktion bei Färbung mit Jodjodkaliumlösung.

Gallenfarbstoffe werden mittelst der *Gmelin*schen Methode am besten unter Kontrolle des Mikroskops nachgewiesen, d. h. läßt man einen Tropfen von Salpetersäure, welche eine Spur salpetrige Säure enthält, einwirken, so färbt sich das Gallenpigment nacheinander grün, rot und blau.

Zum **Nachweis des Eisens** stehen uns ähnlich wie in der Chemie einmal die Berlinerblaureaktion mit Ferrocyankalium (bzw. beim

Vorhandensein von Eisenoxydulverbindungen die Turnbullreaktion mit Ferricyankalium) sowie die Schwarzfärbung mit Schwefelammonium zur Verfügung.

Für die Berlinerblaureaktion kann man mit Lithionkarmin vorgefärbte Schnitte nach *Stieda* in 2%ige wässerige Ferrocyankaliumlösung 3—6 Stunden, sodann 6—12 Stunden in Salzsäurealkohol einlegen und nach kurzem Abspülen in destilliertem Wasser in absolutem Alkohol entwässern etc.

Will man die Schwefelammoniumreaktion anwenden, so verfährt man am besten nach *Quincke*. Man behandelt die Schnitte mit einer nicht ganz frischen, auf jeden Fall schon gelben Schwefelammoniumlösung [illegible] Minuten (bis die Schnitte dunkelgrün sind), spült in Wasser ab, entwässert in absolutem Alkohol etc. Man kann auch die Kerne mit Karmin vorfärben. Silber, Blei und Quecksilber geben ähnliche Reaktionen.

Noch sicherer sind Kombinationsmethoden, so von *Hall* oder *Tirmann* und *Schmelzer*. Bei der *Hall*schen Methode wird das Eisen zunächst in das unlösliche $Fe(OH)_2$ übergeführt, damit auch Spuren von Eisen nicht in Alkohol gelöst werden können. Man härtet frische Gewebsstücke 24 Stunden in:

Alkohol abs.	70 *cm*³,
Schwefelammonium . .	30 „ ,

oder, vor allem Darmstücke, besser in:

Schwefelammonium . .	5 *cm*³,
Wasser	25 „ ,
absoluter Alkohol . . .	70 „ ,

und härtet in steigendem Alkohol nach; es wird sodann in Paraffin eingebettet. Die Stücke sind infolge der Farblosigkeit des $Fe(OH)_2$ fast farblos. Die Schnitte werden nun wieder gefärbt in folgender Lösung:

Ferrocyankalium . . .	1·0 *g*,
Salzsäure	0·5 *cm*³,
Wasser	100 „ .

Hierin bleiben die Schnitte 20 Minuten; sie werden dann in Wasser ausgewaschen, in absolutem Alkohol entwässert etc.

Statt der Nachfärbung der Schnitte mit Ferrocyankalium kann man auch die Reaktion auf Schwefelammonium zum zweiten Male vornehmen. Kerne kann man mit Lithionkarmin rot vorfärben.

Manche Eisenverbindungen sind so innig mit Eiweiß verbunden, daß sie bei den bisher genannten Methoden nicht dargestellt werden. Dieses sogenannte „maskierte" Eisen wird nach der *Mc Callum*schen Methode dargestellt. Die Schnitte werden in *Bunge*sche Flüssigkeit (90 Teile 96%iger Alkohol, 10 Teile 25%ige Salzsäure) 8—10 Stunden bei 37 Grad eingelegt, wobei das nicht organisch gebundene Eisen entfernt wird und sodann in sauren Alkohol (z. B. 5%ige Salpetersäure in 96%igem Alkohol); nach Abspülen der Schnitte in absolutem Alkohol kommen sie in destill

liertes Wasser, und das Eisen wird nun der Berlinerblau- oder Schwefelammoniumreaktion unterworfen. Das Eisen des Hämoglobins soll nach Oxydation mittelst schwachen Wasserstoffsuperoxyds (3%ig. 12—24 Stunden) Eisenreaktionen geben *(Brown)*.

VII. Kalk.

Im ungefärbten Präparat zeichnet sich der Kalk durch seine starke Lichtbrechung aus; er erscheint im auffallenden Licht hellglänzend, im durchfallenden dunkel. In Säuren, so Salzsäure, löst er sich leicht. Kohlensaurer Kalk läßt sich dabei an dem Auftreten von Kohlensäuregasbläschen leicht erkennen. Bei Auflösung mit Schwefelsäure bilden sich die feinen Gipskristalle, welche sich in Wasser leicht lösen. Läßt man den Kalk sich in Salzsäure auflösen und setzt gleichzeitig oxalsaures Ammonium hinzu, so bilden sich Oktaëder des oxalsauren Kalkes.

Kalk färbt sich mit Hämatoxylin blau. So wurde eine eigene Methode von *Leutert* angegeben. Da diese aber auch Eisen und Magnesiumsalze färbt, ist es besser, letztere erst mit Oxalsäure nach *Roehl* zu entfernen. Man legt die Schnitte in um die Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnte wässerige Oxalsäurelösung 1/4—1/2 Stunde (am besten bis ein mit Ferrocyankalium auf Eisen gefärbter Schnitt zeigt, daß das Eisen gelöst ist), wäscht in destilliertem Wasser aus, färbt 5—10 Minuten in mittelalter, 1%iger, wässeriger Hämatoxylinlösung und bringt die Schnitte dann in mit dünnem Ammoniak versetztes destilliertes Wasser, spült in Wasser ab, entwässert in absolutem Alkohol etc. Eine Kernfärbung kann man mit Safranin vornehmen und diese der Kalkdarstellung anschließen.

Kalk zeigt Affinität zu Silber, sowie zu anderen Metallen wie Kupfer, Blei, Eisen etc. und es sind besonders auch mehrere Methoden der Versilberung des Kalkes, im speziellen des phosphorsauren Kalkes, welcher sich dann schwarz darstellt, angegeben worden. So vor allem von *v. Kossa*. Hierbei werden Schnitte an hellem Licht 10 Minuten bis 1 Stunde in 1—5%iger Argentum nitricum-Lösung versilbert. Nach Auswaschen in destilliertem Wasser wird zur Entfernung des überschüssigen Silbernitrates in 5%ige Lösung von unterschwefligsaurem Natrium übertragen, gründlich gewässert, in absolutem Alkohol entwässert etc. Es bildet sich hierbei Silberphosphat, welches unter dem Einfluß des Lichtes zu metallischem Silber reduziert wird.

Da uns auch für einige anorganische und organische Stoffe mikrochemische Reaktionen zu Gebote stehen und diese bei physiologischen Arbeiten benötigt werden könnten, will ich hier einen kurzen Abschnitt aus meiner „Technik" zitieren.

Silber und Blei geben mit Schwefelammonium dieselbe Reaktion wie das Eisen (s. *Quincke*sche Methode s. oben).

Kupfer gibt bei Behandlung mit Ferrocyankalium und Salzsäure (Ausführung der Methode wie beim Eisen) gelbbraune Färbung. Mit dem Hämatoxylin gibt es eine dunkelblaue Reaktion.

Phosphor wird nach folgender Methode *Mc Callums* angegeben. Frische Stückchen Gewebe werden in Alkohol gehärtet, eingebettet und Schnitte mit frisch bereiteter salpetersaurer Molybdänsäurelösung (1 Gewichtsteil Molybdänsäure gelöst in 4 Teilen Ammoniak (spez. Gewicht 0·88) und 15 Teilen Salpetersäure (spez. Gewicht 1·2)) 10 Minuten bis 48 Stunden im Brütofen behandelt. 1—2 Minuten in destilliertem Wasser gewaschen und dann in 1—4%ige wässerige Lösung von salzsaurem Phenylhydrazin übertragen. Ist Phosphormolybdat gebildet worden, so wird es hier in 2—10 Minuten zu dunkelgrünem Molybdänoxyd reduziert. Der Schnitt wird in absolutem Alkohol entwässert, in Zedernholzöl aufgehellt, in Balsam eingeschlossen.

Nach *Mc Callum* kann man auch anorganisch und organisch gebundene Phosphate unterscheiden.

Jod wird von *Justus* nach einer Methode dargestellt, bei welcher zunächst das Jod durch Chromsäure aus seiner Verbindung mit Eiweiß gelöst und durch Einlegen in Silbernitratlösung Jodsilber erzeugt wird. Gleichzeitig sich mitbildendes Silberchlorid wird mittels Natriumchlorid entfernt. Durch Übertragen in Quecksilber wird das Jodsilber in Jodquecksilber übergeführt, wodurch es deutlichere Färbung (rot) annimmt. Uns ist diese Methode nicht gelungen.

Kalium wird durch seine orangerot gefärbte Verbindung mit Kobalt nach der folgenden Methode von *Mc Callum* nachgewiesen:

1. Frische Stückchen oder Gefriermikrotomschnitte von frischem Material werden für 20 Minuten in folgende Mischung eingelegt:

Kobaltnitrit	20 *g*,
Natriumnitrat	35 „,
Eissesig	10 cm^3,
destilliertes Wasser	65 „ ,

nach einigen Stunden filtrieren und mit destilliertem Wasser auf 100 cm^3 auffüllen.

2. Abwaschen in eiskaltem Wasser, bis keine Farbwolken mehr abgehen.
3. Einbetten und untersuchen in einem Gemisch zu gleichen Teilen von Glyzerin und gesättigter Schwefelammoniumlösung.

Harnsäure und Purinkörper werden mit ammoniakalischem Silber schwarz dargestellt nach folgender Methode von *Courmont* et *André*:

1. Härten in absolutem Alkohol, Einbetten in Paraffin, Schneiden.
2. Einlegen der Schnitte in 1%ige Ammoniaklösung oder in sehr schwache unterschwefligsaure Natriumlösung.
3. Übertragen in 1%ige Argentum nitricum-Lösung.
4. Abspülen in destilliertem Wasser.
5. Einlegen in einen photographischen Entwickler (Hydrochinon).
6. Auswaschen in destilliertem Wasser.
7. Ev. Nachfärben mit Hämatoxylin und ev. Eosin.
8. Entwässern in absolutem Alkohol.
9. Xylol, Balsam.

Die Harnsäure und ihre Derivate stellen sich als schwarze Körnchen dar, doch scheint uns diese Methode, welche nach Angabe ihrer Beschreiber für Tiere und den Menschen verschieden ausgeführt werden soll, keineswegs zuverlässig.

VIII. Fibrin.

Der Faserstoff färbt sich mit sauren Anilinfarben in der betreffenden Farbe; mit *van Gieson*-Lösung gelb, bei der *Mallory*schen Methode rot. Unter den speziellen Methoden ist die *Weigert*sche die überragende. Des weiteren sind Methoden von *Kockel* (Modifikation der *Weigert*schen Markscheidenmethode), *Schueninoff* (Modifikation der *Mallory-Ribbert*schen Me-

thode), *Fränkel* (Modifikation der *Best*schen Glykogenmethode), *Mallory* und *K. Herxheimer* angegeben worden.

Bei der *Weigert*schen Fibrinmethode färben sich gleichzeitig die grampositiven Bakterien mit. Es handelt sich hier um eine *Gram*sche Methode, bei der aber der absolute Alkohol zur Differenzierung vermieden werden muß und statt dessen in Anilinöl-Xylol differenziert wird. Um die Schnitte nicht zu stark schrumpfen zu lassen, zieht man sie aus Wasser auf den Objektträger auf und drückt sie mit Filtrierpapier fest an; sie halten dann meist. Man kann auch die Schnitte ankleben. Am besten färbt man mit Lithionkarmin die Kerne vor. Nach dieser Vorfärbung wird zur Ausführung der Methode auf den am Objektträger haftenden Schnitt ein Tropfen Methylviolettlösung aufgegossen und nach etwa 15 Sekunden abgegossen, mittelst Filtrierpapier getrocknet und eine Jodjodkaliumlösung für etwa 10—15 Sekunden aufgegossen, dann abgegossen, der Schnitt mit Filtrierpapier getrocknet und zur Differenzierung Anilinöl-Xylol aufgeträufelt, bis die Grundfarbe wieder rot ist (bei Vorfärbung mit Lithionkarmin) und keine größeren blauen Wolken mehr abgehen. Nun wird Xylol auf den Schnitt gebracht und um alles Anilinöl aus dem Schnitt zu entfernen, damit er nicht weiterdifferenziert wird, das Xylol mit Filtrierpapier getrocknet, wieder aufgebracht und dies mehrfach wiederholt. Hierbei muß auch der Schnitt ganz wasserfrei gemacht, d. h. vollständig durchsichtig werden. Nunmehr kann in Kanadabalsam eingeschlossen werden. Auch verklumpte *Altmann*sche Granula, Schleim und Horn färben sich oft blau mit. Es soll nicht zu stark differenziert werden. Gelingt die Färbung nicht gut (bei chromsäurefixierten Stücken), so ist es gut, die Schnitte vorher zu oxydieren und zu reduzieren, d. h. man überträgt die Schnitte auf etwa 10 Minuten in $^1/_3$%ige wässerige Lösung von Kalium hypermanganicum, wässert gründlich, reduziert sodann mehrere Stunden in 5%iger wässeriger Oxalsäurelösung, wässert wiederum und schließt nun die Färbung, eventuell zunächst Kernvorfärbung an. Die *Weigert*sche Fibrinmethode gelingt an Gefriermikrotomschnitten wie an Schnitten von eingebettetem Material. Als Farblösung, Jodlösung und Differenzierungsflüssigkeit werden am besten folgende von *Weigert* zuletzt gebrauchte Mischungen verwandt:

Farblösung:

Stammlösung I: Anilinöl . . . . 9 cm^3,
absoluter Alkohol . . . 33 „ ,
Methylviolett im Überschuß.

Stammlösung II: Gesättigte wässerige Lösung von Methylviolett.

Beide Stammlösungen sind gut haltbar. Zur Färbung werden 3 cm^3 der Stammlösung I mit 27 cm^3 der Stammlösung II gemischt. Die Mischung hält sich 3—4 Wochen.

Jodlösung:

Jodkalium . . . . 5 g,
Wasser . . . . 100 cm^3,
Jod im Überschuß, nach einiger Zeit filtrieren.

Differenzierungsflüssigkeit:

Anilinöl	2 Teile
Xylol	1 Teil

oder auch ana.

D. Farbmethoden für einzelne Organe beziehungsweise Organsysteme.

Für besondere Methoden kommt in erster Linie das Blut und die blutbildenden Organe einerseits, das Nervensystem andrerseits, des weiteren Leber, Knochen etc. in Betracht. Wir wollen hier aber nur einige wenige der allernotwendigsten und gebräuchlichsten Methoden anführen und desgleichen erst recht in dem nächstfolgenden Abschnitt, welcher die Darstellung der Bakterien betrifft; wird doch jeder auf diesen Gebieten speziell Arbeitende ausführlichere Technikübersichten zu Rate ziehen, beziehungsweise bei der zuletzt genannten Materie die speziellen bakteriologischen. Außer den schon öfters genannten technischen Hilfsbüchern soll hier noch für das Nervensystem auf die *Spielmeyer*sche Technik der mikroskopischen Untersuchung des Nervensystems, Berlin 1911, und für das Blut etc. auf die Hämatologische Technik von *Schridde* und *Nägeli*, Jena 1910, verwiesen werden.

I. Blut und blutbildende Organe.

Zur Darstellung der einzelnen Blutelemente — es ist hier auch die Art der Entnahme des Blutes, auf welche aber hier nicht eingegangen werden kann, von Bedeutung — stehen die Untersuchungen im frischen Präparat, im Deckglastrockenpräparat und im Schnittpräparat zur Verfügung.

Frische Präparate leisten diagnostisch z. B. für Leukämien schon sehr viel. Man kann die Untersuchung — zunächst in Kochsalzlösung — durch Zusatz eines Tröpfchens Methylenblau oder Neutralrot, eventuell auch Eosin erleichtern. Oder man bestreicht nach *Pappenheim* und *Nakanishi* den Objektträger mit einer dünnen Schicht von Neutralrot, Methylenblau etc. und läßt die Farbe antrocknen. Bringt man nun einen Tropfen Flüssigkeit beziehungsweise Blut darauf, so färben sich die Kerne etc. mit den Farben. Man kann auch Objektträger mit Agar dünn bestreichen und hierauf Deckgläschen mit dem Blut etc. auflegen (*Deetjen*). Statt in Kochsalzlösung kann man auch in Blutserum, stark verdünnter Jodkaliumlösung etc. untersuchen. Die Präparate kann man auch noch nachträglich z. B. in Osmiumsäure härten.

Deckglastrockenpräparate. Für alle feineren Details und speziellen Färbungen werden solche verwendet. Die Herstellung derselben, d. h. das Aufbringen eines ganz feinen Tropfens auf das Deckgläschen und dünnes Ausstreichen, am besten durch Abziehen zweier Deckgläschen, kann als bekannt vorausgesetzt werden. In der Regel läßt man die Ausstriche luft-

trocken werden und fixiert sie sodann entweder mittelst Hitze, und zwar hier besser mit Hilfe einer erwärmten Kupferplatte als durch Durchziehen durch die Flamme, oder auf chemischem Wege durch Einlegen in absoluten Methylalkohol (für 10 Minuten), oder absoluten Alkohol etwa $^1/_2$ Stunde, oder Alkohol-Äther beziehungsweise Azeton, oder in 10%iges Formol oder in Osmiumsäure. Man kann auch Formol- oder Osmiumsäuredämpfe einwirken lassen oder nach *Weidenreich* den Blutstropfen auf einen Objektträger ausstreichen, welcher bereits Osmiumsäuredämpfen ausgesetzt war, ihn nun solchen nochmals aussetzen, ihn sodann kurz mehrfach durch die Flamme ziehen und nach dem Erkalten mit dünner übermangansaurer Kaliumlösung für etwa 1 Minute begießen, wässern und mit Filtrierpapier trocknen. Bei manchen alkoholhaltigen Farblösungen ist eine besondere Vorfixation des Deckglastrockenpräparates überhaupt nicht nötig.

Hier sei noch erwähnt, daß auch feuchte Präparate sehr gute Resultate bei Weiterbehandlung geben können.

Deckglastrockenpräparate werden zu Übersichtsbildern am besten mit Methylenblau, oder Hämatoxylineosin, oder Methylenblau-Eosin (hier ist die Färbung nach *v. Müllern*, bei welcher erst mit Methylenblau, dann mit einem Gemisch von Methylenblau und Eosin gefärbt wird, zu empfehlen) gefärbt.

Zur allgemeinen **Darstellung der Granula** sind sodann von Wichtigkeit einmal die Methode von *May-Grünwald* (beziehungsweise *Jenner*) mittelst eosinsaurem Methylenblau, sodann die *Romanowsky*-Färbung, welche heute allgemein in der Modifikation von *Giemsa* verwandt wird, ferner die Kombination der *May-Grünwald*- und *Giemsa*-Färbung nach *Pappenheim* und endlich die Triacidfärbung nach *Ehrlich*.

May-Grünwald-Methode.

Bei der *May-Grünwald*-Färbung tritt durch Zusammenfügen von Eosin- und Methylenblaulösungen eosinsaures Methylenblau auf, welches besonders gut und elektiv färbt, indem der leicht spaltbare Farbstoff bei der Färbung wieder in seine Urbestandteile zerfällt. Man bezieht den Farbstoff am besten von *Grübler* oder in Tablettenform von *Burroughs, Welcome & Co.*, wobei je eine Tablette in 10 cm^3 Methylalkohol gelöst wird. Die Ausstrichpräparate werden in gut verschlossenen Schälchen 2—3 Minuten in der Farblösung gefärbt, sodann diese mit demselben Volumen destilliertem Wasser verdünnt und die Ausstrichpräparate noch 10 Minuten darin gelassen. Es wird mit destilliertem Wasser abgespült, mit Filtrierpapier getrocknet und in neutralen Kanadabalsam eingeschlossen. Frische Ausstrichpräparate gelingen am besten.

Rote Blutkörperchen sind hellrot, eosinophile Granula dunkelrot, Kerne blau, Mastzellengranula tiefblau, neutrophile Granula fein hellrot.

Giemsa-Methode.

Die *Giemsa*-Lösung enthält: Methylenazur, Methylenblau und Eosin gelöst in Methylalkohol und Glyzerin. Die fertige Lösung wird am vorteilhaf-

testen von *Grübler* bezogen. Am besten in Methylalkohol 2—3 Minuten fixierte frische Ausstriche werden in stark verdünnter *Giemsa*-Lösung (1 Tropfen auf je 1 cm^3 Wasser, gerade vor der Färbung zusetzen) 10—30 Minuten gefärbt. Es wird gründlich in fließendem Wasser gewaschen, zwischen Filtrierpapier getrocknet und in neutralen Kanadabalsam eingeschlossen. Man kann auch in der Weise färben, daß man das Deckgläschen, die Schicht nach oben, in ein trockenes Schälchen legt, 10—15 Tropfen einer mit der gleichen Menge Methylalkohol verdünnten *Giemsa*-Lösung darauf träufelt, $^1/_2$ Minute einwirken läßt und nun 10—15 cm^3 destilliertes Wasser darauf gießt und gleichmäßig mit der Farblösung durchmischt; diese verdünnte Lösung soll dann noch 3—5 Minuten einwirken, es wird dann gewässert etc.

Nächst der *Giemsa*-Färbung ist die *Leishman*sche Modifikation der *Romanowsky*-Färbung am verbreitetsten.

Kombinierte *May-Giemsa*-Methode (panoptische Methode) nach *Pappenheim*.

Deckglastrockenpräparate werden, wenn lufttrocken, in *May-Grünwald*-Lösung 3 Minuten fixiert und gefärbt. Man gießt dann dieselbe Menge Aqua dest. hinzu und läßt noch 1 Minute einwirken; dann gießt man ab und begießt mit verdünnter *Giemsa*-Lösung (15 Tropfen auf 10 cm^3 Aqua dest.) für 12—14 Minuten. Abwaschen. Trocknen mit Filtrierpapier. Alte unfixierte Deckglastrockenpräparate werden am besten 24 Stunden in Aqua dest. gelegt und dann unfixiert wie oben gefärbt (verdünnte *May-Grünwald*-Lösung, dann *Giemsa*-Lösung).

Triacid-Methode.

Zur ***Ehrlich*schen Triacidfärbung**, bei welcher Methylgrün, Orange G und Säurefuchsin zur Anwendung kommen, wird die Lösung auch am besten von *Grübler* fertig bezogen. Mittelst Hitze (vorteilhaft bei 140° $^1/_2$ Minute) fixierte Deckgläschenpräparate werden am besten durch Schwimmenlassen auf der Farblösung mit ihr 5 Minuten gefärbt. Nach gründlichem Wässern in destilliertem Wasser wird zwischen Filtrierpapier getrocknet und in Kanadabalsam eingeschlossen. Die Farblösung darf weder geschüttelt noch filtriert werden, man entnimmt am besten mittelst Pipette.

Kerne sind hell grünblau, eosinophile Granula leuchtend rot, neutrophile violettrot, Blutkörperchen orange dargestellt. Besonders die neutrophilen Granula treten vorzüglich hervor.

Die meisten spezifischen Granula der Blutzellen etc. werden, wie schon aus dem Vorhergehenden erhellt, mit diesen Methoden dargestellt. Hier sollen noch Methoden für die **spezifischen Granula der Plasmazellen** erwähnt werden, und zwar kommt hier besonders die Methode

mit polychromem Methylenblau nach *Unna* und die *Unna-Pappenheim*sche Pyroninmethylgrünmethode in Betracht. Beide Methoden sollen unter den Schnittpräparaten besprochen werden. Ihre einfache Anwendung auf Deckglastrockenpräparate ergibt sich von selbst. Des weiteren handelt es sich hier um Mastzellengranula, welche sich ebenfalls nach der *Unna*schen Methode mit polychromem Methylenblau gut darstellen lassen, oder auch z. B. nach *Ehrlich* mit gesättigter wässeriger Lösung von *Dahlia* gefärbt werden. Endlich ist die schon besprochene *Winkler-Schultze*sche Oxydasereaktion zur Unterscheidung der lymphatischen und myeloischen Zellreihe wichtig.

Schnittpräparate. Während die Deckglastrockenpräparate den Vorzug der einfachen Behandlung und des dünnen Ausstriches der Zellen, sowie der relativ geringen Veränderung derselben bei Fixation etc. für sich haben, kommen für alle Fälle, wo auch die Lagebeziehungen der Blutzellen zu einander oder zum Gewebe im allgemeinen bei genetischen Fragen von Wichtigkeit sind, naturgemäß nur Schnittpräparate in Betracht. Die Färbungen sind hier ganz ähnlich wie bei Deckglaspräparaten, einmal Hämatoxylin-Eosin beziehungsweise *van Gieson*- und Methylenblau-Eosinmethoden, des weiteren die schon erwähnte *Altmann-Schridde*sche Methode, die *Ehrlich*sche Triacidmethode (am besten in Sublimat härten), die *Giemsa*- und *May-Grünwald*-Methode. Diese beiden letztgenannten Färbungen müssen aber etwas anders an Schnittpräparaten angewandt werden, da sie sonst mißlingen.

Giemsa-Methode für Schnitte.

Bei der *Giemsa*-Methode empfiehlt ihr Erfinder in einem Gemisch von wässeriger Sublimatlösung 2 Teile und absolutem Alkohol 1 Teil zu fixieren, mit steigendem Alkohol nachzubehandeln und in Paraffin einzubetten, dünne Schnitte aufzukleben, zu entparaffinieren etc. Dieselben werden dann mit Jod (z. B. *Lugol*sche Lösung) etwa 10 Minuten vorbehandelt, in destilliertem Wasser abgespült, 10 Minuten in 0·5%ige wässerige Natriumthiosulfatlösung eingelegt, 5 Minuten in Leitungswasser gewaschen, kurz in destilliertem Wasser abgespült und nun in der verdünnten *Giemsa*-Lösung (1 Tropfen auf 1 cm^3 Aqua dest.) 2—12 Stunden gefärbt (nach ½ Stunde Farbe wechseln), in destilliertem Wasser abgespült und nun in folgenden steigenden Flüssigkeiten nacheinander differenziert, entwässert und aufgehellt:

Azeton 95 cm^3 + Xylol 5 cm^3,
„ 70 „ + „ 30 „ ,
„ 70 „ + „ 50 „ .

reines Xylol, Zedernholzöl; in letzterem untersuchen.

Einfacher ist die Anwendung der *Giemsa*-Methode für Schnittpräparate nach *Schridde*, sogenannte Azur II-Eosinmethode. Die (Paraffin-) Schnitte kommen aus destilliertem Wasser in die Farblösung, die man sich stets frisch so herstellt, daß man mit je 1 cm^3 Aqua dest. 2 Tropfen *Giemsa*-Lösung mischt und zusammenschüttelt (ein Niederschlag darf hierbei nicht ausfallen). Man färbt hierin 20 Minuten, spült in destilliertem Wasser ab, trocknet mit Filtrierpapier, entwässert in reinem säurefreien Azeton ½—1 Minute, hellt in säurefreiem Xylol auf und schließt in neutralen Kanadabalsam ein.

Neuerdings hat *Schridde* die Methode zur Anwendung auf Gefrierschnitte nach Formolhärtung etwas modifiziert.

Man färbt in dünner *Giemsa*-Lösung (je 2 Tropfen der *Grübler*schen *Giemsa*-Lösung auf 1 cm^3 destilliertes Wasser, das Gemisch muß sofort geschüttelt werden) etwa ½ Stunde, spült in Wasser ab und preßt die Schnitte an gut fettfrei gemachte Objektträger mittelst Filtrierpapiers fest an. Nun taucht man sie etwa 10mal ganz kurz in 2 Schalen mit absolutem Alkohol und dann auch etwa 10mal in eine solche mit Xylol und schließt in Kanadabalsam ein.

May-Grünwald-Methode für Schnitte.

Die *May-Grünwald*-Methode ist in verschiedenen Modifikationen für Schnittpräparate anwendbar. Zu empfehlen ist diejenige nach *Zieler*. Man fixiert in *Orth*schem Gemisch oder *Zenker*scher Flüssigkeit und bettet in Paraffin ein. Schnitte werden in der *May-Grünwald*-Farblösung 2 bis 3 Minuten gefärbt (Farblösung nicht schütteln, sondern mittelst Pipette entnehmen), sodann spült man gründlich in destilliertem Wasser ab, trocknet mit Filtrierpapier, legt in säurefreies Azeton ein, in welchem noch etwas blaue Farbwolken abgehen, hellt in reinem, säurefreiem Xylol auf und schließt in neutralen Kanadabalsam ein.

Kombinierte *May-Giemsa*-Methode nach *Pappenheim* für Schnitte.

Es wird in *Orth*schem oder *Helly*schem Gemisch fixiert und eingebettet. Die Schnitte werden in mit dem 4fachen Quantum Aqua dest. versetzter *May-Grünwald*-Lösung 20 Minuten im Brutschrank (Schälchen zudecken) gefärbt. Sodann wird in verdünnter *Giemsa*-Lösung (15 Tropfen zu 10 cm^3 Aqua dest.) 40 Minuten im Brutschrank (Schälchen zudecken) nachgefärbt, in Aqua dest. abgespült, kurz in verdünnter Essigsäure (5 Tropfen Eisessig auf 50 cm^3 Aqua dest.), bis keine gröberen blauen Wolken mehr abgehen, differenziert, wieder in Aqua dest. abgespült, durch Anpressen von Filtrierpapier (bzw. bei Celloidinschnitten Absaugung mit Filtrierpapier) getrocknet, in Azeton puriss. + Alkohol absol. ana entwässert, in Xylol aufgehellt und in neutralem Kanadabalsam (eventuell auch gemischt mit Xylol-Dammarlack) eingeschlossen.

Zur Darstellung der Mastzellen- und Plasmazellengranula ist, wie schon erwähnt, die *Unna*sche polychrome Methylenblaumethode, zur Darstellung der Plasmazellengranula und allgemein aller basophilen Substanzen die *Unna-Pappenheim*sche Pyronin-Methylgrün-Methode außerordentlich empfehlenswert.

*Unna*sche Methode mit polychromem Methylenblau.

Man härtet am besten in absolutem Alkohol und bettet ein. Schnitte werden am besten in der von *Grübler* zu beziehenden Lösung etwa 10 Minuten gefärbt, in destilliertem Wasser abgespült und in der ebenfalls von *Grübler* zu beziehenden, mit dem gleichen Quantum destilliertem Wasser zu verdünnenden Glyzerin-Äthermischung $^1/_2$ bis mehrere Minuten, bis der Schnitt kornblumenblau erscheint, differenziert. Es wird sodann gut in Wasser abgespült, kurz in absolutem Alkohol entwässert, in Xylol aufgehellt und in neutralen Kanadabalsam eingeschlossen. Mastzellengranula sind (ähnlich Schleim und Amyloid) rot, Plasmazellengranula blau (desgleichen Kerne und Bakterien) gefärbt.

*Pappenheim-Unna*sche Pyronin-Methylgrünmethode.

Man härtet in Formol, Alkohol, *Orth*schem Gemisch etc., macht Gefrierschnitte oder bettet ein. Die Schnitte werden in der von *Grübler* zu beziehenden Lösung 10—15 Minuten gefärbt, in Wasser mehrere Minuten abgespült, in 70%igem Alkohol differenziert, kurz in absolutem Alkohol entwässert, in Xylol aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen. Das Protoplasma der Plasmazellen sowie alle basophilen Substanzen sind tiefrot, Kerne blaugrün gefärbt.

Färbungen auf Glykogen, Fette, Lipoide etc. werden in der sonst üblichen Weise an Schnitten oder eventuell auch an Deckglastrockenpräparaten vorgenommen. Blutparasiten werden am besten mit der *Giemsa*- oder *Leishman*-Methode nachgewiesen. Manchmal ist es hierbei, wenn nur einzelne Parasiten im Blute vorhanden sind, vorteilhaft, durch Zusatz von etwa 3%iger Essigsäure in größeren Mengen zum Blut erst die roten Blutkörperchen zu zerstören, nunmehr zu zentrifugieren und Ausstriche vom Sediment herzustellen und nach *Giemsa* oder sonst zu färben.

II. Nervensystem.

Die gerade hier angegebenen Methoden sind Legion. Wir wollen nur für folgende Strukturen die allerwichtigsten Methoden wiedergeben.

Zunächst kommt für die **Markscheiden** als souveräne Methode die von *Weigert* angegebene in Betracht. Er hat dieselbe sehr vielfach modifiziert, und seine letzte Modifikation mittelst des auch unter den Kernfarben schon ganz besonders empfohlenen Eisenhämatoxylins ist so vorzüglich, daß sie wohl auch jeder der außerordentlich zahlreichen von anderen

Autoren angegebenen Modifikationen des *Weigert*schen Verfahrens, unter welchen besonders die bekannte von *Pal* erwähnt sei, überlegen ist. Da jedoch die Methode etwas umständlich und zeitraubend ist, sind die neuerdings angegebenen auf ähnlichen Prinzipien beruhenden Färbungen der Markscheiden am Gefrierschnitt nach Formolhärtung, welche ganz Vorzügliches leisten, sehr zu empfehlen. Solche sind vor allem von *Benda*, *Spielmeyer* und eine Methode von mir in Gemeinschaft mit *Gierlich* ausgearbeitet worden, welche ich unten darstellen will. Erwähnt sei noch, daß sich bei den oben geschilderten Fettfärbungen mit Sudan III und Scharlach R die Markscheiden gelblichrot färben, wenn man die stark farbstoffhaltigen Lösungen benutzt und sie etwas länger einwirken läßt. Zur schnellen Orientierung kann man diese Methode gut benutzen.

An zweiter Stelle seien die **Achsenzylinder und Neurofibrillen** genannt. Während hier früher Karmin- und Hämatoxylinfärbungen allein zu Gebote standen, welche aber außer den Achsenzylindern Gliafasern, Ganglienzellen etc. mitfärben und keineswegs als elektive oder auch nur spezifische Färbungen gelten konnten — hier sei die *Schmaus-Chilesotti*sche Methode mittelst Urankarmin, die *Mallory*sche und *Wolters*sche Methoden mit Hämatoxylin, die *Ströbe*sche mit Anilinblau erwähnt —, trat ein Fortschritt ein mit den Methoden von *Fayersztajn*, *Strähuber* und *Kaplan*, welche aber nur bei markscheidenhaltigen Nerven anwendbar sind, da sie nicht die Achsenzylinder selbst, sondern nur eine dünne diese umgebende Schicht der Markscheiden, das sogenannte Myeloaxostroma darstellen. Eine wirkliche Färbung der Achsenzylinder, auch in marklosen Nerven, und der Neurofibrillen steht uns erst seit Einführung der vorzüglichen Silbermethoden von *Bielschowsky* einerseits, der verschiedenen Methoden von *Ramón y Cajal* andrerseits zur Verfügung. Auch Goldmethoden werden zu diesem Zwecke verwandt, so von *Apathy*.

Die *Bielschowsky*-Methode ist oben schon bei Erwähnung der Darstellung feinster Bindegewebsfibrillen dargestellt. Essigsäure zur Differenzierung kann bei ihrer Anwendung im Nervensystem verwandt werden. Wir können diese Methode, die ich selbst unzählige Male anwandte und bewährt gefunden habe, äußerst empfehlen und wollen unten noch unter den Methoden *Ramón y Cajals* die hauptsächlich für allgemeine Zwecke angegebene wiedergeben.

Zur Darstellung der sogenannten **Nisslschen Granula** der Ganglienzellen ist die ursprüngliche Originalmethode *Nissls* sicherlich die beste. Zeichnet sie sich auch durch Sicherheit aus, so hat doch das Einlegen in absoluten Alkohol und Schneiden, nachdem die Stücke nur mittelst Gummi arab. auf Blöcke geklebt sind, ein außerordentlich schweres Gelingen feiner Schnitte zur Folge. Aus diesem Grunde sind, wenn auch *Nissl* nur die auf diese Weise hergestellten Präparate als „Äquivalentbilder" der Tigroidschollen anerkennt, vielfache Modifikationen, so von *v. Lenhossék*, [illegible] *Plien*, *Held* (bei dieser Methode sind auch die zwischen den Granula gelegenen Protoplasmateile in einer Kontrastfarbe dargestellt) angegeben

worden, welche doch die verschieden gehärteten Objekte in Paraffin (oder Zelloidin) einbetten und dann Schnittpräparate herstellen. Wir wollen die *Nissl*sche Originalmethode kurz wiedergeben.

Die Darstellung der **Neuroglia** gestaltet sich überaus schwierig; auch hier ist eine Methode *Weigerts* die beste, doch leidet auch sie an den Schwierigkeiten weniger der Kompliziertheit, als der Unsicherheit. *Weigert* selbst hat an seiner Methode unablässig bis zu seinem Tode weiter gearbeitet. Seine späteren ausgezeichneten Modifikationen sind mit ihm in das Grab gesunken. Modifikationen sind vor allem von *Spielmeyer* und *Bartel* angegeben worden. Andere ebenfalls komplizierte Methoden stammen von *Benda, Mallory, Fischer* etc. Eine Methode von *Fieandt* färbt die plasmatische und retikuläre Glia neben der faserigen. Die *Alzheimer*sche Methode stellt die amöboiden Gliazellen, ihre Granula und Einschlüsse besonders dar. Wir wollen unten nur die *Weigert*sche Gliamethode anführen.

Des weiteren gibt es zwei Arten von Methoden, welche **mehrere nervöse Strukturelemente gleichzeitig** darstellen, und wenn sie also auch wenig elektiv sind, doch große Bedeutung gewonnen haben. Einmal handelt es sich hier um die *Golgi*sche Methode, nächst ihren Modifikationen, welche allerdings außerordentlich launisch ist und für normale Zwecke mehr wie für pathologische Nerven in Betracht kommt, andrerseits um die vitale Methylenblaumethode *Ehrlichs*. Letztere wurde schon bei Besprechung der vitalen Färbungen erwähnt. Injiziert man dünne Methylenblaulösungen oder bringt sie sonst Tieren ein, so werden die Ganglienzellen und ihre selbst feinsten Ausläufer blau dargestellt. Die größte Schwierigkeit bietet, wie erwähnt, die Fixation der Färbung an den Schnitten. Am besten hat sich hier wohl die Methode von *Bethe* — eine Modifikation des ursprünglichen *Dogiel*schen Verfahrens — bewährt. Er bringt die Stücke 10—15 Minuten in gesättigte wässerige Lösung von pikrinsaurem Ammonium, sodann kommen sie in eine von 6 von *Bethe* angegebenen Lösungen, welche vor allem Ammonium molybdaenicum (zur Bildung von molybdänsaurem Methylenblau), Salzsäure, Wasserstoffsuperoxyd (zur Oxydation der Leukobase) und Chromlösungen oder Osmiumsäure (zur Härtung) enthalten. Genannt sei z. B. folgende Lösung:

Molybdänsaures Ammonium . . .	1 *g*,
$^1/_2$%ige Osmiumsäurelösung . .	10 *cm*³,
Aqua dest.	10 *cm*³,
offizinelle Salzsäure	1 Tropfen,
Wasserstoffsuperoxyd	1 *cm*³.

(Das Ammoniummolybdat muß zunächst im Wasser unter Erhitzen gelöst werden.) Wenn die Stücke hierin 4—12 Stunden gelegen haben, dann gut ausgewaschen werden, in absolutem Alkohol entwässert und eingebettet werden, kann man Schnitte herstellen, an welchen die Methylenblaufärbung gut fixiert ist.

Speziell für pathologische Zwecke stehen uns für **degenerierte Nerven** Methoden zur Verfügung, um die bei dem Markscheidenuntergang gebildeten Fette gesondert darzustellen. Würde man osmieren, so würden sich Markscheiden und Fette färben und somit nicht unterscheiden lassen. Beizt man die Schnitte aber erst in *Müller*scher Flüssigkeit, so verbindet sich die Markscheidensubstanz derart mit dem Kaliumbichromat, daß sie sich nicht mehr färbt, während das Fett dies noch tut. Hierauf beruht die *Marchi-(Algeri)*sche Methode, welche auch kleine Degenerationsprodukte (Fette) positiv darstellt. Nur muß man daran denken, daß kleine Mengen Fett auch einen physiologischen Markscheidenzerfall anzeigen können. Des weiteren muß man sich vor Osmiumsäureniederschlägen hüten. Über die chemischen Vorgänge bei der *Marchi*-Färbung vgl. das Buch von *Mann*. Die Methode selbst soll unten kurz wiedergegeben werden. Färbt man Nervensubstanz mit Sudan III- bzw. Scharlach R-Lösungen, so färben sich, wie oben angegeben, die Markscheiden gelblichrot, die Fette hingegen — nach Formolhärtung und Schneiden auf dem Gefriermikrotom — tiefrot. Man kann so auf sehr einfache und schnelle Weise ebenfalls zerfallene Markscheiden nachweisen; oder man nimmt eine *Weigert*sche Markscheidenfärbung am Gefrierschnitt vor und färbt mit Scharlach R nach, dann sind Markscheiden dunkelblau, Fette rot dargestellt (nach *Benda*).

Auch die sogenannten Körnchenkugeln des Zentralnervensystems nach Markscheidenzerfall lassen sich naturgemäß mit den Fettmethoden gut darstellen.

Für das **periphere Nervensystem** werden vor allem die vitale Methylenblaumethode und Goldimprägnationen nach *Löwit, Golgi, May, Drasch, Ranvier, v. Frey* etc. auf die hier nicht eingegangen werden kann, vorgenommen. Auch die *Bielschowsky*-Methode ist hier sehr wichtig, und auch ein Verfahren von *Bethe* und *Mönckeberg* stellt die primitiven Fibrillen des markhaltigen Nerven dar. Der von *Ernst* beschriebene Radspeichenbau der peripheren Nerven kann mit der *Heidenhain*schen Eisenhämatoxylinmethode ermittelt werden.

Für die Hypophysenzellengranula verwendet *M. B. Schmidt* eine Modifikation der *Weigert*schen Fibrinmethode. Zur Darstellung der chromophilen Zellen muß man in Chromsäurelösungen fixieren oder beizen; die eosinophilen Zellen kann man nach *Kraus* mit dem *Lorrain-Smith-Dietrich*schen Verfahren (s. oben), also mittelst eines Chromhämatoxylinlackes schwarz darstellen.

Als allgemeine Übersichtsmethode auch für das Zentralnervensystem sei auch hier die *van Gieson*-Methode empfohlen, eventuell ist es hierbei vorteilhaft, die Schnitte vorher mit Chromsäure unter leichtem Erwärmen zu beizen.

Die wichtigsten einzelnen Methoden sollen nunmehr kurz angegeben werden:

*Weigert*sche Markscheidenmethode.

Hierzu werden folgende Flüssigkeiten benötigt:

Beize I: Kalium bichromicum . . 5 *g*,
Fluorchrom . . . . . 2·5 *g*,
Wasser . . . . . . 100 cm^3,

Kochen, Filtrieren.

Beize II: Neutrales Cuprum aceticum . . . 5 *g*,
Fluorchrom . . . . 2·5 *g*,
Wasser . . . . 100 cm^3,

Kochen und Hinzufügen von Essigsäure (etwa 36⁰/₀ige) 15 cm^3.

Farbflüssigkeit: Das oben als Kernfarbe angegebene Eisenhämatoxylin *Weigerts*, nur daß man in der Liquor ferri sesquichlorati-Lösung die Salzsäure besser wegläßt.

Differenzierungsflüssigkeit:

Ferricyankalium . . 2·5 *g*,
Borax . . . . . . 2 *g*,
Wasser . . . . . . 100 cm^3.

Alle Lösungen sind gut haltbar.

Man verfährt folgendermaßen: Nach Härten in Formol werden Stücke 4—6 Tage in die erste Beize eingelegt und dann ohne zu wässern im Dunkeln in steigendem Alkohol nachgehärtet und in Zelloidin eingebettet. Die gerade halbfest gewordenen Zelloidinblöcke legt man, ohne sie in Alkohol völlig zu härten, 1 Tag bei 37⁰ in die zweite Beize, überträgt sie dann noch in 70⁰/₀igen Alkohol und stellt Schnitte her. Diese werden im Eisenhämatoxylin 24 Stunden gefärbt, gründlich, am besten 1 Stunde, gewässert und in der Differenzierungsflüssigkeit bis zur Unterscheidung von grauer und weißer Substanz differenziert (Achtung vor Überdifferenzierung!), gründlich gewässert, in absolutem Alkohol bezw. in 96⁰/₀igem entwässert, in Xylol oder Karbolxylol aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen.

Die Markscheiden sind blauschwarz gefärbt; zuweilen färben sich rote Blutkörperchen, Kalk, eventuell Fibrin oder elastische Fasern mit.

*Gierlich-Herxheimer*sche Markscheidenfärbung am Gefrierschnitt.

Man härtet zunächst in Formol, stellt Schnitte auf dem Gefriermikrotom her, legt diese in etwa mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnten Liquor ferri sesquichlorati für 24 Stunden und überträgt sodann die Schnitte direkt in die *Weigert*sche Eisenhämatoxylinlösung für 24—48 Stunden. Nach Wässern wird in *Weigert*scher Differenzierungsflüssigkeit

differenziert, gründlich gewässert, in Alkohol entwässert, Xylol, bezw. Karbolxylol aufgehellt etc.

*Ramón y Cajal*sche Färbung für Neurofibrillen.

Kleine frische Stückchen werden etwa 4—5 Tage bei 37° im Dunkeln in eine 1/2—6%ige Lösung von Argentum nitricum eingelegt und nach 1—2 Minuten langem Abspülen in destilliertem Wasser in folgender Lösung reduziert:

Pyrogallol	1 *g*.
40%iges Formol . . .	5—10 *cm*³.
Aqua dest.	100 „ .

Nach 24stündigem Aufenthalt in dieser Flüssigkeit werden die Stücke 1—2 Minuten in destilliertem Wasser abgespült, in steigendem Alkohol nachgehärtet und in Zelloidin oder Paraffin eingeschlossen. Von den Schnitten sollen die obersten und untersten nicht benutzt werden. Die Schnitte bringt man am besten (nach *v. Tellyesniczky*) in 150 *cm*³ Wasser, welches 4 *cm*³ einer 1%igen Goldchloridlösung enthält für etwa 1/2 Stunde. Die nunmehr stahlgrau gewordenen Schnitte werden in 5%ige Fixiernatronlösung für 5 Minuten übertragen, in fließendem Wasser gründlich ausgewaschen, in absolutem Alkohol entwässert, in Xylol aufgehellt und in Kanadabalsam eingeschlossen.

*Nissl*sche Methode für Tigroidschollen.

Man benötigt hierbei folgende Farblösung:

Methylenblau B Patent (*Buchner & Sohn*, München)	3·75 *g*
geschabte venezianische Seife	1·75 *g*
Wasser	1000 *cm*³

Die umgeschüttelte Lösung ist erst nach einem Vierteljahr gut brauchbar, später noch besser. Vor dem Gebrauch soll man stets gut umschütteln und filtrieren.

Die Stücke werden in 96%igem Alkohol am besten 5 Tage lang gehärtet, dann wird die Unterfläche der Stückchen mittelst Filtrierpapier schnell abgetrocknet und das Stück mittelst Gummi arab. auf einen Holzklotz aufgeklebt und zur Härtung in 96%igen Alkohol, worin der Gummi arab. hart wird und eine weiße Farbe annimmt, übertragen. Schnitte werden auf dem Mikrotom, wobei das Messer stets mit 96%igem Alkohol angefeuchtet werden muß, hergestellt. Sie werden auch in 96%igem Alkohol aufgefangen und breiten sich hier gut aus. Die Schnitte werden dann in der oben angegebenen Methylenblaulösung unter schnellem Erwärmen (daher am besten im Uhrschälchen) über der Flamme, bis Gasbläschen aufsteigen, gefärbt. Die überfärbten Schnitte werden sodann in am besten erst gerade bereitetem folgendem Differenzierungsgemisch differenziert

Reines helles Anilinöl . . . 10 Teile.
90%iger Alkohol . . . . . . 90 „ .

Wenn keine gröberen Farbwolken mehr abgehen, zieht man den Schnitt auf den Objektträger auf, trocknet mit Filtrierpapier und bringt Cajeputöl darauf. Die ganzen Manipulationen bis hierher sollen nur 20 Sekunden dauern. Man trocknet sodann das Cajeputöl mit Filtrierpapier ab, bringt sofort Benzin auf den Schnitt, läßt dies ablaufen und bedeckt den noch feuchten Schnitt mit Xylol- (bezw. Benzin-)Kolophonium, welches man sich so herstellt, daß man ein Gläschen halb mit Kolophoniumpulver füllt, dann bis zum Rande mit Xylol oder Benzin vollgießt und es unter einer Glocke offen stehen läßt; die obere Schicht klarer dünner Flüssigkeit wird dann benutzt. Auf den mit Kolophonium beschickten Schnitt wird sodann das Deckgläschen ausgebreitet. Man erwärmt dann leicht und drückt leicht auf das Deckgläschen. Am Rande austretendes Kolophonium ist mit Filtrierpapier wegzuwischen. Auch alles dies muß schnell vor sich gehen; der Schnitt darf nie trocken liegen. Die Färbung hält sich vor Sonnenlicht geschützt bis etwa 1/2 Jahr gut, eventuell auch weit länger.

*Weigert*sche Gliamethode.

Hierbei benötigt man folgende Flüssigkeiten:

Beize: Fluorchrom . . . 2·5 *g*,
Wasser . . . . 100 cm^3,

kochen und nach Ausdrehen der Flamme zusetzen von

Essigsäure . . . . 5 cm^3,
feingepulvertes neutrales essigsaures Kupfer . . 5 *g*,
40%iges Formol . . . . 10 cm^3.

Reduktionsflüssigkeit:

Chromogen . . . . 5 *g*,
Ameisensäure (spez. Gew. 1·2) . . . . 5 cm^3,
Aqua dest. . . . . 100 „ ,

man filtriert und setzt zum Gebrauch 90 cm^3 dieser Mischung 10 cm^3 einer 10%igen Natriumsulfitlösung zu.

Farblösung:

Heißgesättigte Lösung von Methylviolett
in 70–80%igem Alkohol . . . . 100 cm^3,
5%ige Oxalsäure . . . . 5 „ .

Jodlösung:

Jodkalium . . . . . . 5 *g*,
Aqua dest. . . . . . . 100 cm^3,
Jod im Überschuß.

Das Verfahren ist folgendes: Man fixiert in der formolhaltigen Fluorchromessigsäure-Kupferbeize (s. oben) frische Stücke etwa 8 Tage unter öfterem Wechseln der Flüssigkeit (im Brutofen 4—5 Tage) (man kann auch in Formol fixiertes Material der Beize ohne Zusatz von Formol aussetzen). Die Stücke werden in Wasser abgespült, in steigendem Alkohol nachgehärtet und in Zelloidin, eventuell auch in Paraffin (*Benda*) eingebettet und geschnitten. Die Schnitte kommen in 1—3%ige wässerige Kalium hypermanganicum-Lösung 10 Minuten (zur Oxydation und einer Art Beizung), werden in zweimal zu wechselndem Wasser abgespült und 2—4 Stunden in der oben angegebenen Reduktionsflüssigkeit reduziert. Sodann werden die Schnitte wiederum zweimal in Wasser abgespült und in gut filtrierte 5%ige wässerige Chromogenlösung für einige Zeit übertragen, sodann wieder in Wasser gewaschen, auf einen Objektträger mit Filtrierpapier angedrückt und etwa 30 Sekunden in der oben angegebenen Farblösung gefärbt. Man läßt die Farbe ablaufen, trocknet mit Filtrierpapier und jodiert in der obigen Jodlösung etwa 30 Sekunden, gießt diese ab, trocknet wieder mit Filtrierpapier, differenziert in Anilin plus Xylol zu gleichen Teilen, bis keine stärkeren Farbwolken mehr abgehen (am besten Kontrolle unter dem Mikroskop), trocknet mit Filtrierpapier, wäscht öfters mit Xylol nach, wobei man immer wieder trocknet, und schließt in Kanadabalsam oder besser Kolophonium-Terpentinlack ein. Die Glia ist blau dargestellt, ebenso die Kerne, das Bindegewebe ist violett. Ependym und Ganglienzellen, sowie dickere Achsenzylinder erscheinen gelblich. Sollen die Schnitte nach der Reduktion nicht gleich gefärbt werden, so hebt man sie vor der Färbung am besten in: 80%iger Alkohol 90 cm^3, 5%ige Oxalsäure 10 cm^3 auf. Die Färbung gelingt dann sogar mitunter sicherer und schärfer.

*Golgi*sche Methoden.

A. sogenannte langsame Methode.

Kleine Stücke werden in *Müller*scher Flüssigkeit oder einfacher Kaliumbichromatlösung (2%ig steigend bis 5%ig) etwa 3 Monate, bzw. 1 Monat in der Wärme, fixiert. Nach kurzem Waschen in destilliertem Wasser werden die Stücke 1—2 Tage in etwa 1%ige Silbernitratlösung unter Wechseln der Lösung, sobald sie gelb wird, eingelegt. Man kann Gefrierschnitte herstellen oder in steigendem Alkohol nachhärten und einbetten (bei Zelloidineinbettung sehr schnell verfahren). Die Schnitte werden zur Entfernung des Silbernitratüberschusses in Alkohol gut ausgewaschen, in 96%igem entwässert, 10 Minuten in Kreosot oder Terpentinöl aufgehellt und in Damarharz oder Balsam eingeschlossen, welche man am besten ohne Bedeckung mit einem Deckgläschen an der Luft eintrocknen läßt.

B. *Golgi*sche Schnellmethode.

Man härtet kleine Stücke in:

25%ige Kalium bichromicum-Lösung . . . . . 8 Teile
1%ige Osmiumsäurelösung . . . . 2 „

2—8 Tage im Dunkeln. Vom 2. bis 12. Tag entnimmt man Stückchen und führt die oben angegebene Methode an ihnen aus, bis sie gelingt.

C. *Golgis* kombinierte Methode.

Man härtet in *Müller*scher Flüssigkeit 3—4 Tage, überträgt in das eben genannte Kalium bichromicum-Osmiumsäuregemisch 2—3 Tage und verfährt wie bei der Methode B angegeben weiter. Meist müssen die Stücke in diesem Gemisch zur Darstellung der Gliazellen 2—4 Tage, zur Darstellung der Nervenzellen 3—5 Tage, zur Darstellung der Nervenfasern 6—9 Tage liegen bleiben.

*Marchi*sche Methode.

Man härtet kleine Stücke 1—6 Wochen in *Müller*scher Flüssigkeit, oder erst in Formol und dann in dieser, oder in einem Gemisch beider (*Orth*sche Flüssigkeit); sodann überträgt man die Stücke in folgendes Gemisch: *Müller*sche Flüssigkeit 20 Teile, 1%ige wässerige Osmiumsäurelösung 10 Teile. Die Stücke bleiben hierin bei etwa 37° 4 Tage bis 4 Wochen (Gehirn braucht länger als Rückenmark). Die Mischung muß erneuert werden, sobald die Osmiumsäure verflüchtigt ist. Es wird sodann 24 Stunden in fließendem Wasser gewaschen und schnell in steigendem Alkohol entwässert und nachgehärtet. Man benutzt dabei statt absoluten Alkohols besser Azeton. Man bettet schnell in Zelloidin ein und schneidet, ohne die Blöcke lange in 70%igem Alkohol aufbewahrt zu haben. Der Schnitt braucht nur in absolutem Alkohol entwässert, in Xylol aufgehellt und in Balsam eingeschlossen zu werden. Doch kann man auch die Schnitte mit Lithionkarmin auf Kerne oder nach *van Gieson* etc. nachfärben. Fettsubstanzen sind schwarz dargestellt.

III. Sonstige Organe.

Hier brauchen nur noch einige Methoden für Knochen sowie für einzelne Strukturen der Leber, für die chromaffinen Zellen des Sympathikusgebietes und endlich für die Fettgewebsnekrose und Pankreasnekrose angegeben zu werden.

Knochen.

Zur Darstellung der *Sharpey*schen Fasern dient die *Ebner*sche Methode, bei welcher entkalkte Knochen mit starker Salzsäurelösung oder gesättigter Kochsalzlösung behandelt und unter starker Abblendung untersucht werden, sowie die *Kölliker*sche Methode, bei welcher nach Entkalkung, Härtung, Einbettung und Schneiden die Schnitte in Eisessig bis zur Durchsichtigkeit eingelegt und sodann 1—10 Minuten in gesättigter wässeriger Lösung von Indigokarmin gefärbt, in Wasser abgewaschen und in Glyzerin untersucht werden. (Grundsubstanz blau, *Sharpey*sche Fasern rot.)

Für die Knochenlakunen und ihre Ausläufer benutzte man früher Schliffe unentkalkten Knochens, welche man in Alaunlösung einlegte, wobei frei werdende Kohlensäure in die Lakunen und Kanälchen eindringt (nach *v. Recklinghausen*). Jetzt stehen zwei vorzügliche Methoden von *Schmorl* zur Verfügung. Die erste dieser, welche sicherer zu sein scheint, soll hier wiedergegeben werden.

*Schmorl*sche Methode.

Man fixiert kleine Knochenstückchen am besten in Formol, härtet 6—8 Wochen in *Müller*scher Flüssigkeit nach, wäscht 24 Stunden in Wasser ab, entkalkt, am besten mittelst *Ebner*scher alkoholischer Salzsäurelösung (dann ist das vorherige Wässern überflüssig), härtet nach sorgfältigem Wässern in steigendem Alkohol nach und bettet ein oder stellt Gefrierschnitte her. Dünne Schnitte werden mindestens 10 Minuten in Wasser eingelegt und dann am besten in folgender ammoniakalischer Thioninlösung gefärbt:

Konzentrierte Lösung von Thionin in 50%igem Alkohol	1 cm^3.
Aqua dest.	10 „ .
Liquor ammonii caust.	2 Tropfen.

Die Schnitte werden sodann gewässert, 1—2 Minuten in Alkohol übertragen, wieder gewässert und gelangen mit Glasnadeln für einige Sekunden oder länger in gesättigte wässerige Lösung von Phosphorwolframsäure. Sodann werden die Schnitte mindestens 5—10 Minuten, bis sie einen himmelblauen Ton haben, gewässert und die Färbung in 20%igem Formol 1—2 Stunden oder in Liquor ammonii caust. 10 cm^3, Wasser 100 cm^3, 5 Minuten fixiert. Sodann werden die Schnitte in einmal zu wechselnden 90%igen Alkohol übertragen, dann zur Entwässerung in 96%igen oder absoluten Alkohol, zur Aufhellung in Xylol oder Karbolxylol (kurz) und in Balsam eingeschlossen. Ist die Grundsubstanz zu dunkel gefärbt, so kann man nach der Fixierung etwa 3—5 Minuten in Salzsäurealkohol differenzieren, eventuell kann man dann zellige Elemente noch mit Hämatoxylin nachfärben.

Bei dieser Methode sind Knochenhöhlen und ihre Ausläufer blauschwarz, Zellen, besonders Kerne, blau gefärbt. Die Grundsubstanz ist bei Fixierung der Färbung in Formol hellblau, bei Fixierung in Ammoniak farblos bis grünblau, bei letzerer, wenn in *Müller*scher Flüssigkeit gehärtet worden war, rot dargestellt. Färbt man statt mit der obigen Farblösung nach Entkalkung in wässeriger Salpetersäure $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde in konzentrierter wässeriger Thioninlösung, welche zur Hälfte mit Wasser verdünnt wird und überträgt die Schnitte nach der Phosphorwolframsäurebehandlung in fließendes Wasser auf 2 Stunden oder langer und sodann 1—2 Stunden in 5%ige Lösung von Kalialaun in Aqua dest., wässert dann gründlich

etc., so treten die fibrillären Strukturen des Knochengewebes noch deutlicher hervor.

An entkalkten Knochenstücken ist nicht mehr mit Bestimmtheit festzustellen, **welche Teile kalkhaltig** waren, welche nicht. Kommt es hierauf an, so ist es nach *Pommer* am wichtigsten, Schnitte nur von unvollständig entkalkten Knochenstücken zu verfertigen. Man entkalkt dann in *Müller*scher Flüssigkeit nur so lange, bis es gerade gelingt, Schnitte herzustellen. Man bettet dann ein etc. und kann vor allem 6—12 Stunden in dünner Ammoniak-Karminlösung färben und in Glyzerin untersuchen. Oder aber man versilbert die Schnitte, dann sind die verkalkten Gebiete schwarz dargestellt; auch alle möglichen anderen Färbungen gelingen gut, und diese unvollständig entkalkten Knochenstücke lassen den Kalkgehalt ebensogut wie völlig unentkalkte nachweisen.

Der Nachweis gelingt aber auch noch an ganz entkalkten Geweben, und zwar entweder wenn man die *Best*sche Glykogenmethode (s. oben) anwendet oder wenn man nach *Pommer* in *Müller*scher Flüssigkeit härtet, in *Ebner*schem Gemisch entkalkt, nach stundenlangem Wässern die Stücke in halbgesättigte Kochsalzlösung einlegt, sie nunmehr in steigendem Alkohol nachhärtet und ohne einzubetten schneidet, die Schnitte dann aber 12 bis 18 Stunden in ganz dünnen wässerigen Lösungen von Methylviolett, Dahlia oder Safranin z. B. in 0·002%iger Methylviolettlösung färbt, wässert und in Glyzerin untersucht, welchem etwas von der Farblösung, in welcher gefärbt wurde, zugesetzt ist. Die vor der Entkalkung kalkhaltigen Partien sind dann allein gefärbt.

Leber.

In der Leber kommen vor allem einmal die Gallenkapillaren, sodann die *Kupffer*schen Gitterfasern und endlich die *Kupffer*schen Sternzellen in Betracht. Die **Gallenkapillaren** lassen sich sehr gut mittelst der *Weigert*schen Gliamethode oder deren Modifikation von *Bartel* darstellen, welch erstere sich nach einer Modifikation von *v. Jagić* auch an Gefriermikrotomschnitten vornehmen läßt. Oder man verwendet eine von *Eppinger* (jun.) angegebene Methode, welche eine Kombination der *Weigert*schen Markscheiden- und Gliamethode darstellt.

Die **Gitterfasern** färben sich am allerbesten nach der *Bielschowsky*-Methode, weniger gut nach der *Verocay*schen oder *Hüter*schen etc.

Die **Kupfferschen Sternzellen** kann man am besten bei Tieren dadurch darstellen, daß man Karmin (*Asch*), chinesische Tinte (*v. Kupffer*) oder Argentum colloidale Credé (1 *g* auf 5 *cm*³ Wasser) (nach *Cohn*) injiziert (bei Kaninchen in die Ohrvene); tötet man dann die Tiere schon nach 3 Minuten, so sind die Sternzellen bereits vollständig imprägniert.

Beim Menschen stellt man die Sternzellen am besten nach *v. Kupffer* dar. Man schneidet frische Stücke auf dem Gefriermikrotom und legt die Schnitte 10 Minuten in 0·05%ige Chromsäurelösung, sodann

zur Vergoldung im Dunkeln 1½—2 Tage, bis sie rot [illegible] erscheinen in folgende Goldchloridlösung ein:

Goldchlorid	. . . .	1 Teil.
Salzsäure	. . . . . .	1 „
Wasser	. . . .	1000 Teile.

Die Schnitte werden sodann in 0·1—0·2%iger Ameisensäure reduziert, in absolutem Alkohol entwässert, Xylol aufgehellt, Balsam eingeschlossen. Die Sternzellen heben sich dann schwarz von den rotviolett gefärbten Leberzellen ab, doch ist die Methode wenig zuverlässig.

Chromaffine Zellen.

Zur Darstellung der chromaffinen Zellen des Markes der Nebenniere und der sogenannten Paraganglien (Sympathikusgebiet) muß man von vornherein in *Müller*sche Flüssigkeit oder sonstige chromhaltige Fixierungsmittel einlegen; färbt man dann mit polychromem Methylenblau nach, so erscheinen die chromaffinen Zellen grasgrün. Sehr sichere hierauf basierende Methoden sind von *Wiesel* und *Schmorl* angegeben worden. Bei der letzteren fixiert man in *Orth*schem Gemisch, stellt Gefrierschnitte her oder bettet ein und schneidet, färbt die Schnitte 24 Stunden in um das 10fache mit Aqua dest. verdünnter *Giemsa*-Lösung, wässert in destilliertem Wasser, differenziert kurz in ¼%iger Essigsäure, entwässert in absolutem Alkohol, hellt in Xylol auf etc. Kerne sind dunkelblau, Protoplasma im allgemeinen rot, chromaffine Zellen grün dargestellt.

Fettgewebsnekrose.

Fettgewebsnekrosen und Pankreasnekrosen werden nach *Benda* folgendermaßen hervorgehoben: Nach Härten in Formol überträgt man Stücke in die *Weigert*sche Fluorchrom-Kupferbeize im Brutofen 2—4 Tage (oder man kombiniert diese beiden Schritte). Nunmehr treten die fettgewebsnekrotischen Partien auch makroskopisch dunkelgrün hervor. Schneidet man auf dem Gefriermikrotom und färbt mit Scharlach R oder Sudan III und Hämatoxylin, so sind die Kerne blau, normales Fett rot, nekrotische Partien grün dargestellt. Es handelt sich hierbei um die Bildung eines fettsauren Kupfersalzes. Dieses färbt sich mit alkoholischen Hämatoxylinlösungen, z. B. einer 1%igen Hämatoxylinlösung in 96%igem Alkohol schwarz, und diese Lackbildung ist auch in *Weigerts* Boraxferricyankalium-Differenzierungsflüssigkeit fast unlöslich (*Fischler*). Verfährt man so an Gefrierschnitten, so sind nur noch die vorher grün gefärbten nekrotischen Teile schwarz dargestellt (s. auch die *Fischler*sche Methode für Fettsäuren oben).

E. Farbmethoden für Parasiten.

Bei Parasiten und insbesondere bei Bakterien kommt, ähnlich wie wir es beim Blut sahen, Untersuchung des frischen Präparates

des Deckglastrockenpräparates und des Schnittpräparates in Betracht.

Zur Untersuchung des **frischen Präparates** muß man, wie auch sonst bei Bakterien, in der Regel Ölimmersion verwenden. Am besten setzt man 2%ige Kalilauge oder Essigsäure zu, wobei Eiweiße gelöst werden, Bakterien erhalten bleiben. Zusatz von Äther oder absolutem Alkohol schützt vor Verwechslung mit Fetttröpfchen durch Auflösung letzterer. Ev. untersucht man auf dem heizbaren Objekttisch zur Erhaltung der Bewegungsfähigkeit der Bakterien; ev. kommt auch Dunkelfeldbeleuchtung, speziell bei der Spirochaete pallida, in Betracht. Oft ist die Untersuchung im sogenannten hängenden Tropfen sehr angezeigt, oder man wendet eine Art vitaler Färbung nach *Nakanishi-Pappenheim*, wie sie schon unter „Blut" angegeben wurde, an.

Deckglastrockenpräparate werden auch ganz wie beim Blut hergestellt. Zur Fixierung zieht man in der Regel die beschickten Deckgläschen bzw. Objektträger 3mal mit der Hand durch die Flamme, und zwar gerade so langsam, daß man mit der Hand die Wärme spürt, aber noch keinen Schmerz empfindet, ev. kann man auch in Alkohol abs., ev. unter Zusatz von Äther etc. fixieren. Wenn nur wenige Bakterien vorhanden sind, zentrifugiert man erst und macht Ausstriche vom Sediment. Zur Färbung benutzt man vorteilhaft sogenannte *Cornet*sche Pinzetten, in welchen das Deckgläschen oder der Objektträger wagrecht steht, und träufelt die Farblösung darauf. Besonders bei Färbungen, welche über der Flamme vor sich gehen sollen, ist dies vorteilhaft. Oder man füllt ein Schälchen mit der Farbflüssigkeit und wirft das Deckgläschen mit der beschickten Seite nach unten so auf die Flüssigkeit, daß es auf ihr schwimmt. Zur Färbung dienen basische Anilinfarben, besonders das Methylenblau, Fuchsin, Methylviolett, Thionin, Bismarckbraun; zur Verstärkung der Farblösungen werden Beizen zugesetzt. Als solche Zusätze kommt besonders zu Methylenblau Kalilauge (*Löffler*sches Methylenblau: konzentrierte alkoholische Methylenblaulösung 30 cm^3, 0·01%ige Kalilauge 100 cm^3), Anilinwasser besonders bei Anwendung von Methyl-(Gentiana-)violett, Karbolwasser besonders dem Fuchsin (Fuchsin 1 *g*, Alkohol abs. 10 cm^3, 5%iges Karbolwasser 100 cm^3), oder auch dem Methylenblau (nach *Kühne*), oder dem Thionin (nach *Nicolle*) zugesetzt, in Betracht.

Zum Differenzieren verwendet man Alkohol oder Salzsäurealkohol; ganz dünne ½—1%ige Essigsäure, manche Salzlösungen wie dünne Lösungen von kohlensaurem Kalium oder endlich Anilinxylol. Die Differenzierungsmittel werden in der Regel erst nach Wässern angewandt, und nach ihnen muß auch stets gründlich ausgewaschen werden (bei Anwendung von Anilinoxylol in Xylol), damit nicht eine Nachentfärbung eintritt. Man braucht dann weder in absolutem Alkohol zu entwässern, noch in Xylol aufzuhellen, sondern trocknet den Objektträger bzw. das Deckgläschen mit Filtrierpapier und kann den Objektträger direkt, ohne mit einem Deckgläschen zu beschicken, mittelst Ölimmersion untersuchen. Deckgläschen

werden, wenn auf ihnen Ausstriche angelegt worden waren, mittelst eines Tropfens Kanadabalsam am Objektträger befestigt und dann untersucht.

Ganz allgemein empfiehlt sich zur Färbung von Bakterien auf Deckgläschenausstrichen eine solche mit *Löffler*schem Methylenblau oder mit *Unna*schem polychromen Methylenblau. Des weiteren sind Färbungen mit der *Giemsa*-Lösung oder auch der Pyronin-Methylgrünmethode (s. oben) und endlich folgende neuere Methode *Löfflers* zu empfehlen. Bei dieser verwendet man zum Färben folgende Lösung:

Borax . . . . 2·5 *g*,
Methylenblau . . . . [illegible] „ ,
Aqua dest. . . . . 100 cm^3,
polychromes Methylenblau . . . . 25 „ ,
0·05% Bromeosin B extra oder extra A G
(Höchst), gelöst in Aqua dest. . . . . 125 „ ;

man färbt hierin 1 Minute unter leichtem Erwärmen und taucht die Deckgläschen dann in folgende Lösung ein:

Konzentrierte wässerige Lösung von Tropäolin OO 5 cm^3,
Eisessig . . . . 0·5 „ ,
Wasser . . . . 100 „ ,

spült in Wasser ab, trocknet etc.

Für alle grampositiven Bakterien eignet sich am allerbesten die *Gram*sche Methode. Man färbt Ausstriche 3—5 Minuten in Anilinwasser-Methylviolett (Gentianaviolett), gießt die Farblöung ab und beschickt das Deckgläschen für 1—2 Minuten mit *Lugol*scher Lösung. Nach Abgießen dieser wird in absolutem Alkohol so lange differenziert, bis das Präparat fast farblos erscheint, es wird getrocknet und in Kanadabalsam eingeschlossen. Ev. färbt man auch gramnegative-Bakterien mit dünnem Karbolfuchsin oder Bismarckbraunlösung nach. Statt der *Gram*schen Originalmethode kann man auch die *Weigert*sche Methode (oben als Fibrinmethode beschrieben) anwenden, d. h. nach der Jodierung wird hier das Deckgläschen statt in Alkohol in Anilinölxylol differenziert. Auch gibt es zahlreiche andere Modifikationen, so neuere von *Löffler*, *Jensen* etc.

Zur Anlegung von **Schnittpräparaten** kann man in Formol, Sublimat etc. am besten aber in Alkohol härten und einbetten, doch sind auch Formol-Gefrierschnitte gut zu verwenden. Man färbt ganz wie oben angegeben, also in der Regel auch mit *Löffler*schem Methylenblau oder anderen basischen Anilinfarben; nur muß man dann etwas länger färben und ev. in der Wärme. Am besten färbt man Schnitte in *Löffler*schem Methylenblau 5 Minuten bis 1/2 Stunde, differenziert in 1/2—1%iger Essigsäure (10—30 Sekunden, entwässert einige Minuten in 90%igem, dann in absolutem Alkohol, hellt in Xylol auf, schließt in Balsam ein. Manche Bakterien werden am besten in dünner Karbolfuchsinlösung (3 cm^3 derselben auf 10 cm^3 Wasser etwa 1/4—1/2 Stunde) unter Differenzieren in ganz schwach ange-

säuertem Alkohol nach *Pfeiffer* gefärbt. Auch das polychrome Methylenblau ist gut zu gebrauchen, besonders wenn man in einem von *Fränkel* angegebenen Gemisch von Tanninlösung, Säurefuchsinlösung und *Unna*scher Glyzerin-Äthermischung differenziert.

Schwer färbbare Bakterien lassen sich meist nach *Zieler* folgendermaßen gut darstellen: Die Schnitte werden 8—24 Stunden in folgende *Pranter*sche Orzeïnlösung gebracht:

Orzeïn D Grübler	. . .	0·1 *g*,
offic. Salpetersäure	. . .	2·0 *cm*³,
70°/₀iger Alkohol	. . .	100 „ ;

sie werden sodann in 70°/₀igem Alkohol kurz abgespült, in Wasser gewaschen, 10—30 Minuten in polychromem Methylenblau gefärbt, in destilliertem Wasser gewaschen und in dem *Unna*schen Glyzerin-Äthergemisch differenziert, sodann wieder in destilliertem Wasser abgespült, in 70°/₀igen Alkohol gebracht, in absolutem entwässert, Xylol aufgehellt etc.

Auch für Schnittpräparate eignet sich die *Giemsa*-Methode in ihrer Anwendung für solche besonders nach *Schridde* (s. oben) oder nach *Leishman* oder die *May-Grünwald*-Methode, wie sie z. B. von *Zieler* (s. oben) für Schnittpräparate angegeben wurde. Bei allen grampositiven Bakterien ist die *Gram*sche Methode, am besten in der Art der *Weigert*schen Fibrinmethode ausgeführt, souverän.

Für **besondere Strukturen der Bakterien** muß man spezielle Färbungen benutzen. Für alle feineren Details der Zellen ist die *Giemsa*-Methode am geeignetsten. Zur Darstellung der *Ernst Babes*schen Granula kann man die gleich anzugebenden Sporenfärbungen oder Tuberkelbazillenfärbungen verwenden. Speziell für die Diphtheriebazillen, zu deren Unterscheidung von Pseudodiphtheriebazillen die Darstellung der Granula besonders wichtig ist, ist eine Methode von *Neisser* mit Methylenblau-Kristalviollett und Chrysoidin angegeben worden.

Zur Darstellung der Sporen, welche nur an Deckgläschenpräparaten vornehmbar ist, sind besonders intensive Färbungen notwendig. Am besten verfährt man nach *Neisser* und *Hueppe*: Hitzefixierte Ausstriche werden 1—5 Stunden bei 40—50° in gesättigter Anilinwasser-Fuchsinlösung unter Nachgießen der Farblösung, wenn verdunstet, gefärbt, in 25°/₀iger Schwefelsäure etwa 5 Sekunden differenziert, des weiteren in Alkohol bis keine Farbwolken mehr abgehen, in destilliertem Wasser abgespült, in *Löffler*schem oder sonstigem Methylenblau 2—3 Minuten nachgefärbt, in Wasser abgewaschen, getrocknet und in Balsam untersucht. Sporen sind rot, Bazillen etc. blau.

Kapseln der Kapselbakterien lassen sich am besten an Bakterien, welche frisch dem Tierkörper entstammen, nachweisen. Geeignet ist die *Johne*sche Methode, bei welcher 2 Minuten unter Erwärmen bis zur Dampfbildung in wässeriger 2°/₀iger Gentianaviolettlösung gefärbt und nach Wässern in 1—2°/₀iger Essigsäure 10 Sekunden differenziert, ge-

wässert und im Wasser untersucht wird. Die Bakterien sind dunkelblau, die Kapseln hell dargestellt. Auch von *Klett*, *Ribbert* etc. stammen Kapselfärbungsmethoden.

Für **Schnittpräparate** kann man nach *Friedländer* zur Darstellung der Kapseln folgendermaßen verfahren: Man färbt 2—24 Stunden in der Wärme in folgender Farblösung:

Aqua dest.	100 cm^3
Konzentrierte alkoholische Gentiana-violettlösung	50 „ ,
Eisessig	10 „ .

Man differenziert sodann in 1%iger Essigsäure 1—2 Minuten, entwässert in absolutem Alkohol, hellt in Xylol auf, schließt in Balsam ein. Auch hier sind die Bazillen dunkelblau, die Kapseln hellblau dargestellt.

Geißeln und Wimperhaare können auch nur an Deckglastrockenpräparaten dargestellt werden. Unter den zahlreichen Methoden seien die *Löffler*sche Methode besonders in der Modifikation von *Bunge*, die *van Ermengem*sche Silbermethode (von welcher die *Levaditi*-Methode eine Modifikation darstellt) und die *Zettnow*sche Methode erwähnt. Bei der letzteren werden Bakterien in einen auf einem Objektträger befindlichen Wassertropfen übertragen und etwas hiervon in einen größeren Wassertropfen, dem 1—2 Ösen 2%ige Osmiumsäure beigemischt sind. Hiervon werden Ausstrichpräparate angefertigt, und diese mittelst des Hitzeverfahrens fixiert. Man beizt dann 5—7 Minuten in der Wärme in folgender Lösung: 5 *g* Tannin werden in 100 cm^3 Wasser gelöst, auf 50—60° erhitzt und etwa 36 cm^3 einer 35%igen Lösung von Tartarus stibiatus in Aqua dest. zugefügt und erhitzt, bis der Niederschlag gelöst ist. Nachdem man in dieser Beize 5—7 Minuten gebeizt hat, beizt man die Ausstriche in derselben Lösung, indem man das Schälchen sich abkühlen läßt, bis die Beize sich zu trüben beginnt, weiter, wässert sie und versilbert sie dann in:

Argentum nitricum	5 cm^3,
Natrium sulfuricum	6 „ ,
Aqua dest.	30 „ .

Der Niederschlag wird gewaschen, mit 500 cm^3 Aqua dest. vermischt, und man läßt dann absitzen. Die darüber stehende Flüssigkeit wird mit einem gleichen Quantum Wasser gemischt und soviel 33%iges Äthylamin und Ammoniak zugesetzt, bis der braune Niederschlag wieder verschwunden ist. 3—4 Tropfen dieser Silberlösung werden auf das Deckgläschen aufgeträufelt, und man erhitzt dann, bis die Lösung stark riecht und die Ausstrichränder sich schwärzen; nach Wässern wird getrocknet und in Balsam eingeschlossen.

Unter den für **einzelne Parasiten angegebenen Methoden** wollen wir nur die gebräuchlichsten, für den **Tuberkelbazillus** einerseits, die **Spirochaete pallida** andererseits erwähnen.

Zur Anreicherung auf **Tuberkelbazillen** steht uns heute an Stelle der komplizierteren und weniger leistenden früheren Anreicherungsverfahren die bekannte Antiforminmethode nach *Uhlenhuth* zur Verfügung und es sei nur erwähnt, daß man auch Schnittpräparate, am besten Gefrierschnitte, dem Antiformin aussetzen und dann Ausstriche anlegen kann. Zur Färbung der Deckgläschenpräparate wird am häufigsten die *Ziehl-Neelsen*sche Methode verwandt. Man färbt hierbei unter Erwärmen, bis Dämpfe aufsteigen, 3—5 Minuten in Karbolfuchsin, spült in Wasser ab, differenziert in 25%iger Schwefelsäure oder 30%iger Salpetersäure 20—25 Sekunden, spült in 90%igem Alkohol ab, färbt mit Methylenblau gegen, wässert, trocknet und schließt in Balsam ein. Noch sicherer ist die *Koch-Ehrlich*sche Methode; während sich aber die bei der *Ziehl-Neelsen*schen Methode verwandte Farblösung, das Karbolwasserfuchsin, gut hält, muß das hier verwandte Anilinwasserfuchsin bzw. Anilinwassermethylviolett stets frisch hergestellt werden, und zwar so, daß man 100 cm^3 Anilinwasser etwa 11 cm^3 der konzentrierten Lösung des Farbstoffes in Alkohol zusetzt. Man färbt auch hier unter Erwärmen bis Dämpfe aufsteigen und sodann während des Erkaltens, im ganzen etwa 3 bis 5 Minuten, differenziert etwa 1 Minute in 33%iger Salpetersäure, dann weiter in 70%igem Alkohol einige Minuten, bis das Präparat hellrot erscheint, färbt in wässeriger Methylenblaulösung (wenn Methylviolettlösung verwandt wurde in Bismarckbraunlösung) 1—2 Minuten nach, wässert, trocknet, schließt in Balsam ein.

Unter den zahlreichen Modifikationen dieser Methode, welche alle darauf beruhen, daß die Tuberkelbazillen sich schwer färben, aber ihre Farbe gut festhalten, und welche meist die Differenzierung und Nachfärbung, was aber weniger vorteilhaft ist, vereinigen, seien diejenigen von *Fränkel* und *Gabbet* erwähnt, des weiteren die Methoden von *Weichselbaum*, *Czaplewski*, *Spengler*.

Zur Darstellung der Tuberkelbazillen in Schnittpräparaten färbt man am besten mit dem Karbolwasser- oder Anilinwasserfuchsin in der Kälte etwa 24 Stunden (eventuell in der Hitze kürzer, was aber weniger empfehlenswert ist). Nach Wässern differenziert man dann in gewöhnlichem Salzsäurealkohol, bis der Schnitt hellrot erscheint, wässert, färbt die Kerne mit Hämatoxylin, spült am besten in leicht ammoniakalischem Wasser ab, um eine schöne blaue Kontrastfarbe zu bewirken, entwässert in absolutem Alkohol, hellt in Xylol auf, schließt in Balsam ein.

Neuerdings wird außer auf die bazilläre Form der Tuberkelbazillen auf die sogenannten *Much*schen Granula größeres Gewicht gelegt, welche *Much* mit modifizierten *Gram*schen Methoden, deren er drei angegeben hat, darstellt. Unter diesen sei folgende erwähnt:

Als Farblösung wird verwandt:

Gesättigte Lösung von Methylviolett B N
in absolutem Alkohol . . . . 10 cm^3,
2%iges Karbolwasser . . . . 100 „ ,

man färbt hierin bei 37° 24—48 Stunden und jodiert sodann in einer 2%igen Wasserstoffsuperoxydlösung, welcher pro 100 cm^3 5 g Jodkalium zugesetzt sind; sodann wird in absolutem Alkohol vordifferenziert, in Xylol aufgehellt und in Balsam eingeschlossen.

Um Tuberkelbazillen in Form von Bazillen und *Much*schen Granula gleichzeitig darzustellen, dient eine Methode von *Wehrli* und *Knoll*. Man mischt hierbei folgende zwei Lösungen und filtriert:

Lösung I: Die eben genannte *Much*sche Methylviolettlösung.

Lösung II: Fuchsin . . . . . . 1 g,
Alkohol. absol. . . . 10 cm^3,
Aqua dest. . . . . 100 „ .

In das frische Gemisch dieser beiden Stammlösungen kommen die Schnitte und werden über der Flamme, bis Blasen aufsteigen, 4 Minuten gefärbt, man jodiert sodann wie oben bei der *Much*schen Methode angegeben 5 Minuten, differenziert in 1—2%igem Salzsäurealkohol, bis zu den roten Fuchsinwolken sich die ersten bläulichen Wolken zumischen, entwässert in mehrfach zu wechselndem absoluten Alkohol, hellt in Xylol auf, schließt in Balsam ein. Die Bazillen sind rot, *Much*sche Bazillen sowie *Much*sche Körnchen blau, Gewebe leicht rosa dargestellt.

Auch an Deckgläschen läßt sich diese Methode für die *Much*schen Granula naturgemäß verwenden.

Zur Unterscheidung der Tuberkelbazillen von den Smegmabazillen etc. dient eine Methode von *Gasis*, welche darauf beruht, daß die Tuberkelbazillen konstant, im Gegensatz zu den anderen säurefesten Bazillen, alkalifest sein sollen.

Die **Spirochaete pallida** wird an Deckgläschenpräparaten am besten frisch mittelst Dunkelfeldbeleuchtung oder mit dem *Burri*schen Tuscheverfahren oder mit Hilfe der *Giemsa*-Methode dargestellt. Bei der letzteren kann man auch nach *Löffler* mit Hilfe von Beizen verfahren.

Bei dem *Burri*schen Tuscheverfahren mischt man 1 Teil Pelikantusche 541 (*Grübler*) mit 9 Teilen Aqua dest., noch besser mit 1 Teil Aqua dest. Je 10 cm^3 dieser Mischung werden in Reagenzgläsern im Autoklaven sterilisiert; sie bleiben dann noch etwa 2 Wochen zum Absetzen von Verunreinigungen stehen. Zum Gebrauch entnimmt man mit der Platinöse einige Tropfen von der Oberfläche der Lösung und überträgt sie auf fettfreie (sterile) Objektträger. Man bringt nun das zu untersuchende Material in diese Tropfen und streicht sie aus. Nunmehr erscheinen die Spirochäten (und andere Bakterien) hellleuchtend, gewissermaßen als Negativ auf schwarzem Grund. Wegen aller Details siehe *Burri*, Das Tuscheverfahren. Jena 1909.

In Schnitten wird die Spirochaete pallida am besten versilbert. Eine solche Methode ist als Modifikation der *van Ermengem*schen (siehe oben) zuerst von *Volpino* und *Bertarelli* angegeben worden. Die Me-

difikation von *Levaditi*, besonders in ihrer ersten Form, ist die allgemein übliche.

Bei dieser Methode werden kleine Gewebsstücke in Formol fixiert, 24 Stunden in 96%igen Alkohol, sodann in destilliertes Wasser, bis die Stücke untersinken, übertragen, dann mit 1½—3%iger Argentum nitricum-Lösung etwa 3 Tage im Brutofen bei 37° (in dunklen Flaschen) imprägniert, kurz in destilliertem Wasser abgespült und in folgender Lösung bei Zimmertemperatur 24—48 Stunden reduziert:

Pyrogallussäure	4 *g*,
destilliertes Wasser	100 *cm*³,
40%iges Formol	5 *cm*³,

(in dunkler Flasche vor Licht geschützt aufheben), sodann wird gewässert und eventuell auf dem Gefriermikrotom geschnitten oder eingebettet. Die Schnitte kann man z. B. mit Karbol-Thionin nachfärben oder nach *Giemsa*; sie brauchen aber nur in absolutem Alkohol entwässert, in Xylol aufgehellt, in Kanadabalsam eingeschlossen zu werden. Die Spirochäten erscheinen ganz schwarz, das Gewebe ist, wenn nicht gegengefärbt wird, hellgelb gefärbt.

Wegen aller Details von Bakterienfärbungen sei nochmals auf die größeren Techniken und bakteriologischen Hilfsbücher verwiesen.

Einige für Blut- und Harnanalyse bestimmte Schnellmethoden.

Von **Otto Folin**, Boston.

Für die unten mitgeteilten Methoden sind folgende Apparate und Reagenzien notwendig:

1. Ein *Duboscqu*-Kolorimeter (kleine Größe) oder irgend ein anderer ähnlicher Apparat mit zwei oder mehr dazu passenden Gefäßen.

2. Eine sehr gute Luft- oder Wasserstrahlpumpe (vgl. den Katalog der Vereinigten Fabriken, Liste 120, Nr. 2458 mit Vakuumpumpe).

3. Genaue *Ostwald*sche Pipetten (1 und 2 cm^3) mit extra langem Ansatzrohr und langer Spitze. (Vgl. *Ostwald-Luther*, Physiko-chemische Messungen. 2. Aufl. S. 135.)

4. Zwei oder mehr Mikrobunsenbrenner.

5. Temperaturindikatoren. (Vgl. hierzu Bd. V, Teil 1 dieses Werkes, S. 286.)

6. Jenenser Reagenzgläser (25 *mm* : 200 *mm*).

7. *Nesslers* Reagens.

8. Ammoniakfreies Natriumazetat (wasserfrei).

9. *Kahlbaums* Ammoniumsulfat, pro Analyse, zur Herstellung von Standardlösungen.

10. Besonders hergestellte Phosphorwolframsäurelösung (Reagens auf Harnsäure).

11. $^1/_{10}$-Normallösung von Natrium in absolutem Alkohol (zur Bestimmung der Hippursäure).

I. Harn.

1. Bestimmung des Gesamtstickstoffes im Harn (*Folin* und *Farmer*[1]).

A. 5 cm^3 Harn werden in eine 50 cm^3 fassende Flache abgemessen, falls das spezifische Gewicht des Harnes mehr als 1·018 beträgt. Ist dieses

[1]) Journ. of Biolog. Chemistry. Vol. 11, p. 493 (1912).

niedriger, dann wird eine 25 *cm*³ fassende Flasche gewählt. Die Flasche wird bis zur Marke mit destilliertem Wasser gefüllt und einige Male umgeschwenkt, um eine gründliche Mischung des Inhaltes herbeizuführen. 1 *cm*³ dieses verdünnten Harns wird nun in ein großes Jenenser Reagenzglas gefüllt (Größe 20 : 25 *mm* : 200 *mm*). Man gibt 1 *cm*³ konzentrierte Schwefelsäure, 1 *g* Natriumsulfat, einen Tropfen einer 5%igen Kupfersulfatlösung und zur Vermeidung von Spritzen eine reine, kleine Quarzkugel hinzu. Man kocht jetzt über einen Mikrobunsenbrenner etwa 6 Minuten, d. h. etwa 2 Minuten, nachdem das Gemisch farblos geworden ist. Jetzt läßt man abkühlen (ca. 3 Minuten), wobei die Mischung dickflüssig wird. Man vermeide das Festwerden der Masse. Es werden nun 6 *cm*³ Wasser zugefügt, und zwar zuerst tropfenweise und dann immer schneller, so daß kein Festwerden eintritt. Hierauf gibt man einen Überschuß an Natronlauge zu (3 *cm*³ einer gesättigten Lösung) und treibt das Ammoniak mit Hilfe eines Luftstromes in einen mit etwa 20 *cm*³ Wasser und 2 *cm*³ $^1/_{10}$-Normalsalzsäure gefüllten, 100 *cm*³ fassenden Meßkolben über. In den ersten 2 Minuten wird die Luft langsam, dann aber 8 Minuten in schnellstem Tempo durchgeleitet.

Nunmehr wird der Inhalt der vorgelegten Flasche auf ca. 60 *cm*³ verdünnt. In einem zweiten Meßkolben löst man die 1 *mg* Stickstoff entsprechende Menge von Ammoniumsulfat zu dem gleichen Volumen auf. Zu beiden Lösungen gibt man so gleichzeitig als möglich 5 *cm*³ von *Nesslers* Reagens, das unmittelbar vor dem Gebrauch mit ungefähr 25 *cm*³ Wasser verdünnt worden ist (5 *cm*³ des *Nessler*schen Reagenses geben mit 1—2 *mg* Ammoniak eine maximale Färbung. Verdünnt man in der angegebenen Weise, dann wird Trübung vermieden). Die entstehende Farbe nimmt nicht sofort ihre größte Intensität an. Es ist dies erst nach etwa einer halben Stunde der Fall, doch kann man, da unter den geschilderten Bedingungen, weil man vergleicht, auch sofort die beiden Meßkolben mit destilliertem Wasser bis zur Marke auffüllen, mischen und dann die Farbintensität mittelst eines Kolorimeters vergleichen.

Die Berechnung des Resultates ist einfach. Man dividiert die abgelesene Menge der Standardlösung durch diejenige der zu bestimmenden Menge und erhält so den Gehalt des angewandten Harns an Stickstoff in Milligramm.

Steht komprimierte Luft zur Verfügung, dann wird mit großem Vorteil das Ammoniak durch Durchblasen von Luft übergetrieben. Es empfiehlt sich die Luft vorher durch verdünnte Schwefelsäure zu leiten, um sie von etwa vorhandenen Spuren von Ammoniak zu befreien. Wird das Ammoniak durch Durchsaugen von Luft übergetrieben, dann wird es im Meßkolben nicht vollständig absorbiert. Es wird in einem zweiten 2 *cm*³ $^1/_{10}$-Normalsäure und 5 *cm*³ Wasser enthaltenden Reagenzglas aufgefangen. Es wird dann diese Flüssigkeit mit 40—50 *cm*³ Wasser in den Meßkolben gegossen und im übrigen, wie oben beschrieben, verfahren.

Fig. 125 zeigt den Aufbau des Apparates, wenn man das Ammoniak mit komprimierter Luft übertreibt und Fig. 126 seine Zusammensetzung bei Anwendung einer Vakuumpumpe.

B. Die mikrochemische Methode der Bestimmung von Stickstoff ist bisher ausschließlich auf der Grundlage einer kolorimetrischen Vergleichung

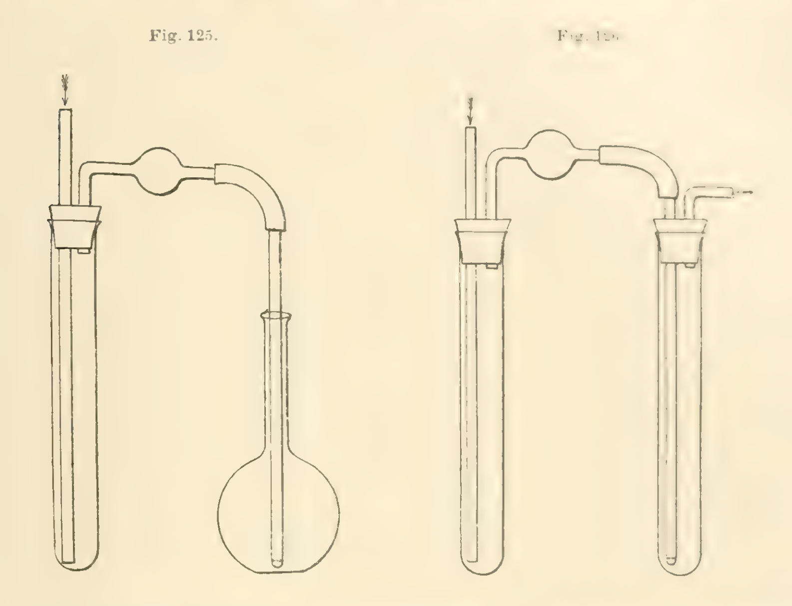


Fig. 125. Fig. 126.

mit einer Standardlösung von Ammoniumsalz beschrieben worden. Das kolorimetrische Prinzip ist jedoch nicht unerläßlich. 1 *cm*³ Harn, verdünnt mit dem gleichen Volumen Wasser, wird, wie oben beschrieben, zersetzt. Es entsteht genügend Ammoniak, um dieses unter Verwendung von $^1/_{10}$-Normalsäure und $^1/_{50}$-Normalalkali mittelst Alizarinrot als Indikator zu titrieren. Die Durchführung der Methode gleicht der eben geschilderten, nur wird das Ammoniak in einer gewöhnlichen, kleinen Florenceflasche aufgefangen. Diese wird mit 10 *cm*³ $\frac{n}{10}$-Säure und ca. 40 *cm*³ Wasser beschickt. Die Titration erfolgt in gewohnter Weise. Der Umschlag ist genau genug, um gute Resultate zu geben.

Fig. 127.

An Stelle des bei der Kühlung nach *Kjeldahl* unerläßlichen Abzuges kann für die Mikrokjeldahlmethode mit Vorteil folgende einfache Apparatur verwendet werden (vgl. Fig. 127). Auf die Öffnung eines Reagenzglases, das den Urin mit der konzentrierten Schwefelsäure enthält, wird ein „Dampfkondensierer" gesetzt. Man verbindet den Aufsatz mit einer Wasserstrahl-

pumpe, die die Dämpfe mit sich fortführt, während die kondensierten Dämpfe in das Reagenzglas zurückfließen.[1])

2. Bestimmung des Harnstoffes nach *Folin*.[2])

Der Harn wird so stark verdünnt, daß 1 cm^3 davon 0·75—1·5 *mg* an Harnstoffstickstoff enthält. Verdünnungen von 1 in 20, 1 in 10 oder seltener 1 in 5 entsprechen gewöhnlich dieser Anforderung. 1 cm^3 des verdünnten Harns wird mittelst einer *Ostwald*schen Pipette in ein großes Reagenzglas aus Jenenser Glas (20 : 200 *mm*) übergeführt, das vorher mit 7 *g* trockenem, von Klumpen freiem Natriumazetat, 1 cm^3 — nicht mehr — 5%iger Essigsäure, einem Sandkorn zur Vermeidung von Stoßen und einem Temperaturindikator beschickt worden ist.

Das Reagenzglas wird dann mit einem Gummistopfen, der ein leeres, enges Chlorkalziumrohr (25 *cm* : 1·5 *cm*) als Kondensator trägt, verschlossen. Nun werden Reagenzglas und Kühler mittelst einer Bürettenklammer so an einem Stativ befestigt, daß der ganze Apparat ohne Mühe hoch oder niedrig über der kleinen Flamme eines Mikrobunsenbrenners angebracht werden kann. Sobald das Azetat gelöst ist und das Gemisch zu kochen beginnt, was meist nach etwa 2 Minuten der Fall ist, beginnt der Indikator zu schmelzen. Es zeigt dies an, daß 153—160° erreicht sind. Das Kochen wird nun 10 Minuten gleichmäßig fortgesetzt. Am Schlusse dieser Zeit ist der Harnstoff zersetzt. Der Apparat wird nun von der Flamme fortgenommen und der Inhalt des Reagenzglases mit 5 cm^3 Wasser verdünnt. Das Wasser wird durch das Chlorkalziumrohr so zugeführt, daß dieses selbst und der Boden des Stopfens von etwa vorhandenen Spuren von Ammoniumazetat befreit wird. Man soll nicht mehr als 5 cm^3 Wasser für diesen Zweck anwenden. Jetzt fügt man einen Überschuß an Alkali, 2 cm^3 einer gesättigten Natriumhydrat- oder Kaliumkarbonatlösung, hinzu. Das in Freiheit gesetzte Ammoniak wird mittelst eines scharfen Luftstromes in eine 100 cm^3-Meßflasche, die 35 cm^3 Wasser und ca. 2 cm^3 $\frac{n}{10}$-Säure enthält, übergeführt. Die Dauer der Überführung des Ammoniaks hängt von der Stärke des Luftstromes ab. 10 Minuten sind gewöhnlich reichlich bemessen. Die Bestimmung des Ammoniaks erfolgt kolorimetrisch in genau der gleichen Weise, wie es oben bei der Bestimmung des gesamten Stickstoffes beschrieben worden ist. Auch hier wird als Standardlösung eine Ammoniumsulfatlösung verwendet.

3. Bestimmung des Harnstoffes im Harn bei Diabetes.

Moerner hat zuerst darauf hingewiesen, daß die Bestimmung des Harnstoffes in zuckerreichen Harnen besondere Maßnahmen erfordert. Der Zucker muß nach *Moerner* erst entfernt werden, was viel Mühe macht und viel Zeit kostet. Wenn der Zuckergehalt des Harnes genügend klein ist, läßt sich der Harnstoff direkt bestimmen.

[1]) *Folin* and *Denis*, Journ. of Biol. Chem. Vol. **11**. p. 503 (1912).

[2]) Journ. of Biolog. Chem. Vol. **11**. p. 507 (1912).

Die Verbindung zwischen Harnstoff und Zucker (Dextrose) wird erst bei so großen Verdünnungen gelöst, daß die Anwendung einer Titrationsmethode zur Bestimmung des Harnstoffes nicht mehr in Frage kommt.

Enthält das zur Zersetzung des Harnstoffes (ca. 2 *mg*) verwendete Azetatgemisch 10 *mg* Zucker, so gehen schon 40—50% des Harnstoffstickstoffes verloren. Bei einem Gehalt von nur 5 *mg* Zucker sinkt der Verlust an Stickstoff auf 20%. Dieser Verlust bleibt sich gleich, ob nun nur 1 *mg* Harnstoff oder auch nur $^1/_{10}$ dieser Menge vorhanden ist. Versuche haben jedoch gezeigt, daß 0·1—0·3 *mg* Harnstickstoff bei Anwesenheit von 2 *mg* Dextrose bestimmt werden können. Man braucht daher den Harn nur so stark zu verdünnen, daß er in 1 *cm*³ nur 0·1 *mg* Harnstoffstickstoff enthält. Der Zucker braucht nicht entfernt zu werden, wenn das Verhältnis von Dextrose : Stickstoff (D : N) 20 : 1 ist.

Die Bestimmung des Harnstoffstickstoffes im Harn bei Diabetes wird, wie folgt, ausgeführt: 1 *cm*³ Harn, der vorher 20 + 100mal verdünnt worden ist, wird in der üblichen Weise mit Natriumazetat und Essigsäure zersetzt. Das Ammoniak wird in ein zweites Reagenzglas, das mit zirka 2 *cm*³ Wasser und 0·5 *cm*³ $\frac{n}{10}$-Salzsäure beschickt ist, übergeführt. Zum Inhalt dieses Reagenzglases gibt man einige Kubikzentimeter Wasser und dann 3 *cm*³ verdünnte (1 : 5) *Nessler*sche Lösung. Die gefärbte Lösung wird dann unter Nachspülen in einen Meßkolben von 10 *cm*³ Inhalt übergeführt. Man füllt zu 10 *cm*³ auf und gibt das Ganze in einen trockenen Zylinder des *Duboscq*eschen Kolorimeters. Man vergleicht in gewohnter Weise mit einer Standardlösung, die in 100 *cm*³ 1 *mg* Stickstoff enthält.

4. Bestimmung des Ammoniaks im Urin (*Folin* und *Macallum* [1]).

Man messe mittelst einer *Ostwald*schen Pipette 1—5 *cm*³ Urin ab und gebe diese in ein Reagenzglas. (Das verwendete Volumen soll 0·75 bis 1·5 *mg* Ammoniakstickstoff ergeben. Normaler Urin enthält meist in 2 *cm*³ so viel. Ist der Urin sehr verdünnt, dann muß man bis 5 *cm*³ davon nehmen. Bei an Ammoniak reichem Harn von Diabetikern enthält oft 1 *cm*³ noch zu viel Ammoniak-N. Man muß in diesem Falle noch verdünnen.) Man gibt jetzt ein paar Tropfen einer Lösung zu, die 10% Kaliumkarbonat und 15% Kaliumoxalat und ein paar Tropfen von Kerosin oder schweres rohes Maschinenöl enthält. Der letztere Zusatz dient zur Verhinderung von Schäumen. Das Ammoniak wird durch Durchjagen von Luft (ca. 10 Minuten lang) übergetrieben und in einem 100 *cm*³-Meßkolben, der 20 *cm*³ Wasser und 2 *cm*³ $\frac{n}{10}$-Säure enthält, aufgefangen. Wieder wird kolorimetrisch, wie oben geschildert, der Stickstoff bestimmt.

---

[1]) Journ. of Biol. Chem. Vol. 11. pag. 521 (1912).

5. Bestimmung des Kreatinins im Harn nach *Folin*.

Vgl. dieses Werk, Bd. III. Teil 2. S. 787. An Stelle von 5—10 *cm*³ Harn verwende man nur 1 *cm*³ und nehme dementsprechend auch von den Reagenzien (Pikrinsäure und Natronlauge) weniger. Die Reaktion wird in einem 100 oder 50 *cm*³ fassenden Meßkolben ausgeführt. Es ist besser, an Stelle von Natriumbichromatlösung das reine Kreatinin, das jetzt leicht zugänglich ist[1]), zu verwenden.

6. Bestimmung der Harnsäure im Harn (*Folin* und *Macallum*[2]).

Die in gewöhnlicher Weise bereitete Lösung von Phosphorwolframsäure gibt mit Harnsäure eine schwache und unsichere Reaktion. Kocht man dagegen 100 *g* Natriumwolframat mit 80 *cm*³ 85⁰/₀iger H_3PO_4 und 750 *cm*³ Wasser, dann erhält man ein sehr wirksames Reagenz. Nach dem Abkühlen der Lösung wird sie auf 1 *l* aufgefüllt.[3])

Die Bestimmung der Harnsäure mittelst dieser Lösung wird, wie folgt, durchgeführt: 2—5 *cm*³ Harn werden in ein 100 *cm*³ fassendes Becherglas übergeführt. Nach erfolgtem Ansäuern mit einem Tropfen gesättigter Oxalsäurelösung wird auf dem Wasserbad bei kleiner Flamme zur Trockene verdampft. Der Rückstand wird zweimal mit 10—15 *cm*³ einer Mischung von 2 Volumen reinen Äthers und 1 Volumen Methylalkohol gewaschen. Nun wird der Rückstand unter Zusatz von einem Tropfen einer gesättigten Sodalösung und ca. 10 *cm*³ Wasser gelöst. Zu dieser Lösung fügt man 2 *cm*³ der Phosphorwolframsäurelösung und 20 *cm*³ einer gesättigten Sodalösung. Es resultiert eine blaue Lösung. Sie wird in einen 100 *cm*³ fassenden Meßkolben gespült. Nach erfolgtem Auffüllen bis zur Marke vergleicht man mit einer Standardlösung, die man sich durch Auflösen von 1 *mg* Harnsäure in Lithiumkarbonat bereitet hat. Zu dieser Lösung gibt man auch die erwähnten Reagenzien.

Um Fehlerquellen zu vermeiden, erzeuge man die Blaufärbung in der Standard- und der zu bestimmenden Lösung gleichzeitig. An Stelle der Standardharnsäurelösung, die sich höchstens eine Woche hält, kann man auch das Harnsäurereagens selbst als Standardlösung verwenden, indem man ganz wenig (einige *mg*) von Harnsäure in 20 *cm*³ gesättigter Sodalösung löst und dazu 1 *cm*³ des Harnsäurereagenz gibt. Man stellt nun gegen eine Harnsäurelösung von bekanntem Gehalt ein und kann nun diese Lösung zu Vergleichen verwenden.

7. Bestimmung der Hippursäure im Urin in Form von Benzoësäure (*Folin* und *Flanders*[4]).

Man gebe 100 *cm*³ Harn mittelst einer Pipette in eine Porzellanschale. Nach Zusatz von 10 *cm*³ 5⁰/₀iger Natronlauge wird auf dem Dampfbad zur Trockene verdampft. Am besten stellt man die Schale abends auf

---

[1]) *Folin* und *Denis*, Ebenda. Vol. **8**. p. 399 (1910).

[2]) Ebenda. Vol. **11**. p. 265 (1912) und Vol. **13** (1912).

[3]) Ebenda. Vol. **12**. Nr. 2 (1912).

[4]) Journ. of Biol. Chem. Vol. **11**. p. 257 (1912).

das Bad. Ihr Inhalt wird am anderen Morgen zur Trockene verdampft sein. Der Rückstand wird in einen 500 cm^3 fassenden Kjeldahlkolben übergeführt unter Anwendung von 25 cm^3 Wasser und 25 cm^3 konzentrierter Salpetersäure. Man gibt noch 0·2 *g* Kupfernitrat, ein paar Glasperlen zu und kocht $4^1/_2$ Stunden über einem Mikrobrenner.

Der Hals der Flasche wird mit Hopkinskühler versehen. Diese werden aus einem Reagenzglas hergestellt. Sie sitzen locker genug. Man muß gut kühlen, um Verlusten an Benzoësäure und Änderungen der Konzentration der Salpetersäure vorzubeugen.

Nach erfolgtem Abkühlen wird der Kühler mit 25 cm^3 Wasser abgespült und der Inhalt des Kjeldahlkolbens mit 25 cm^3 Wasser in einen 500 cm^3 fassenden Scheidetrichter übergeführt. Das gesamte Volumen des Gemisches beträgt jetzt 100 cm^3. Man gibt nun so viel Ammoniumsulfat hinzu, daß die Lösung davon gesättigt wird (ca. 55 *g*). Man macht vier Extraktionen mit frisch gewaschenem Chloroform. Man benützt 50, 35, 25 und 15 cm^3. Die beiden ersten Portionen werden dazu verwendet, um den Kjeldahlkolben auszuspülen. Es wird im Scheidetrichter tüchtig ausgeschüttelt. Die Gefahr einer Emulsionsbildung besteht nicht.

Die erhaltenen Chloroformauszüge werden in einem anderen Scheidetrichter gesammelt. Man gibt dazu 100 cm^3 einer gesättigten Lösung von reinem Kochsalz, zu der auf jeden Liter 0·5 cm^3 konzentrierter Salzsäure zugegeben worden sind. Es wird gut durchgeschüttelt und das Chloroform in einen trockenen, 500 cm^3 fassenden Erlenmeyerkolben abgelassen. Man titriert mit $\frac{n}{10}$-Natriumalkoholat und benutzt dabei 4—5 Tropfen Phenolphtalein als Indikator. Bei der Bestimmung des Endpunktes der Titration wird keine Rücksicht auf das Verschwinden der Färbung genommen, wenn die Mischung etwas gestanden hat. Der erste Punkt gilt.

II. Blut.

1. Das Sammeln des Blutes (*Folin* und *Denis*).

Einspritznadeln von 1 *mm* Durchmesser und 25 *mm* Länge werden in eine verdünnte ätherische Lösung von Vaselin getaucht und dann auf einem reinen Papier trocknen gelassen. Dieses Verfahren findet keine Anwendung, wenn Blut von Menschen genommen werden soll, weil hier die Nadeln sorgfältig sterilisiert werden müssen. Die Nadel wird nun auf der Spitze einer Pipette mittelst eines ganz reinen Gummischlauches befestigt. Nun gibt man eine Spur von gepulvertem Natriumoxalat in das obere, ganz trockene und enge Ende der Pipette. Das Pulver kann nun bis in die Nadel vorrücken. Das andere Ende der Pipette ist mit einem Rohr verbunden, das mit einen Mundstück in Verbindung steht, das aus einem spitzzulaufenden Glasrohr besteht. Zum Abschließen der Pipette ist das Rohr mit einer Klemmpinzette versehen.

Um Blut zu gewinnen, wird die Nadel in eine Vene oder Arterie eingeführt und der Blutzufluß mittelst der Klemmpinzette und durch Saugen reguliert. Man erhält so die gewünschte Blutmenge, ohne große Operation und ohne Blutverluste.

2. Isolierung des Nichteiweißstickstoffes des Blutes (*Folin* und *Denis*[1]).

Zur Abtrennung der nichteiweißartigen, stickstoffhaltigen Verbindungen aus dem Blut verwendet man azetonfreien Methylalkohol und eine alkoholische Lösung von Zinkchlorid. Gewöhnlicher Methylalkohol ist nicht brauchbar, weil die Verunreinigungen stören. Das abgezapfte Blut wird sofort in mit Methylalkohol halb gefüllte Meßkolben übergeführt, und diese werden dann mit Methylalkohol bis zur Marke aufgefüllt. Nun schüttelt man energisch. 2 cm^3 des Blutes werden auf 25·5—50 cm^3 verdünnt. Nach 2 Stunden wird der Inhalt des Meßkolbens durch trockene Filter filtriert. Zum Filtrat fügt man 3 Tropfen einer gesättigten alkoholischen Lösung von Zinkchlorid. Nachdem die Mischung 2 Minuten gestanden hat, wird wieder durch ein trockenes Filter filtriert. Das Zinkchlorid bedingt einen Niederschlag, der auch etwa vorhandene färbende Substanzen mit sich reißt. Das Filtrat ist jetzt farblos. 5 cm^3 dieses Filtrates, entsprechend 0·4—0·5 cm^3 Blut — je nach der Menge entnommenen Blutes 2 oder 5 cm^3 — werden zur Bestimmung des Stickstoffes verwendet.

Werden Muskeln analysiert, dann muß die alkoholische Fällung sorgfältig mit Alkohol gewaschen werden. Die Muskeln werden sofort nach der Entnahme — noch zuckend — mit scharfen Messern zerkleinert und unter Methylalkohol in den Meßkolben gebracht. Hat man das Gemisch 2 Stunden stehen gelassen, dann hat sich die koagulierte Muskulatur abgesetzt. Sie wird über Nacht mit erneuertem Alkohol extrahiert. Die verschiedenen alkoholischen Extrakte werden vereinigt, in einem 100 cm^3-Meßkolben filtriert. Nach Zugabe von einigen Tropfen einer alkoholischen Zinkchloridlösung wird bis zur Marke mit Methylalkohol aufgefüllt und nochmals filtriert.

3. Bestimmung des gesamten Nichteiweißstickstoffes im Blute (*Folin* und *Denis*[2]).

Um den gesamten Nichteiweißstickstoff im Blute zu bestimmen, werden 5—10 cm^3 des oben erwähnten alkoholischen Filtrates in ein großes Jenenser Reagenzglas (vgl. S. 718) übergeführt. Ein Tropfen Schwefelsäure, ein solcher von Kerosin und eine Glasperle werden zugegeben. Nun wird der Methylalkohol abgetrieben, indem man das Reagenzglas in ein Becherglas taucht, das kochendes Wasser enthält. Es genügt 5—10 Minuten langes Kochen. Nun wird, nachdem der Alkohol entfernt ist, 1 cm^3 konzentrierter Schwefelsäure zugesetzt, ferner versetzt man mit 1 *g* Natriumsulfat und einem Tropfen einer Kupfersulfatlösung. Das Gemisch wird gekocht,

[1]) Journ. of Biol. Chem. Vol. **11**. p. 529 (1912).

[2]) Journ. of Biol. Chem. Vol. **11**. p. 529 (1912).

abgekühlt und dann verdünnt, wie es beim Harn — oben S. 718 — beschrieben ist.

Nach erfolgtem Aufschließen wird nun das Ammoniak in der wiederholt hier erwähnten Weise übergetrieben. Es wird nicht in einem Meßkolben aufgefangen, sondern in einem zweiten Reagenzglas, das mit 1 *cm*³ $\frac{n}{10}$-Säure und 2—3 *cm*³ Wasser beschickt ist. Man geht so vor, weil das die verwendete Menge Blut — 0·4—0·5 *cm*³ — nur 0·1—0·2 *mg* Nichteiweißstickstoff enthält. Die zur Anstellung der *Nessler*schen Reaktion zu verwendende Lösung darf bis zu 100 *cm*³ verdünnt sein. Kleinere Gefäße kann man nicht verwenden, weil sonst beim Luftdurchleiten zu leicht Verluste durch Verspritzen eintreten könnten. Man muß deshalb große Reagenzgläser anwenden. Das *Nessler*sche Reagenz wird in diesen zugesetzt, erst dann führt man den Inhalt des Reagenzglases in einen Meßkolben über. Meistens verwendet man eine 25 *cm*³-Flasche. Man kann sehr scharf im Kolorimeter vergleichen.

Die Berechnung der analytischen Resultate auf Milligramm Stickstoff von 100 *cm*³ Blut ist nicht schwer, doch sei die Formel angeführt. Diesen Formeln ist folgendes zugrunde gelegt: Die Standardlösung enthält 1 *mg* Stickstoff als Ammoniumsulfat und ist in einer 100 *cm*³ fassenden Flasche mit *Nesslers* Reagenz versetzt worden. Das Prisma des Kolorimeters mit der Standardlösung steht auf 20 *mm* $\frac{50}{R}$. D, worin R die Ablesung der zu bestimmenden Lösung bedeutet und D das Volumen, auf das das Ammoniak der Lösung verdünnt worden ist. Angenommen ist, daß 0·4 *cm*³ Blut zur Verarbeitung kamen. Sind es 0·5 *cm*³ und sind diese auf 50 *cm*³ verdünnt, dann lautet die Gleichung $\frac{40}{R}$. D.

Arbeitet man mit Blut von Menschen, dann nimmt man 10 *cm*³ des Filtrates, das man von 5 *cm*³ Blut, das auf 50 *cm*³ verdünnt worden war, erhalten hatte. Die Formel lautet dann: $\frac{20}{R}$. D.

4. Bestimmung des Harnstoffes im Blute (*Folin* und *Denis*[1]).

5 *cm*³ des alkoholischen Filtrates von Katzenblut oder 10 *cm*³ Menschenblut werden zu jeder Bestimmung verwandt. Diese Menge wird in ein großes Jenenser Reagenzglas übergeführt. In diesem wird die Zersetzung vorgenommen. Ein Tropfen von verdünnter Essigsäure und 2—3 solche von Kerosin werden zugefügt und dann das Reagenzglas mit einem angepaßten zweimal durchbohrten Gummistopfen verschlossen. Durch ein Loch des Stopfens führt ein zu einer Kapillare ausgezogenes Rohr. Die Kapillare reicht bis fast auf den Boden des Reagenzglases. Durch eine andere Öffnung geht ein Rohr, das mit einer guten Wasserstrahlluftpumpe in Verbindung steht. Das Reagenzglas wird in warmes Wasser gestellt und

[1]) Journ. of Biol. Chem. Vol. **11**. p. 535 (1912).

nun die Pumpe in Tätigkeit gesetzt. In 10—30 Minuten ist aller Alkohol entfernt. Es wird nun der Stopfen abgenommen. Man fügt jetzt 2 *cm*³ 25%iger Essigsäure, einen Temperaturindikator, eine Glasperle und 7 *g* trockenes Natriumazetat hinzu und erhitzt auf 153—158°. Nach 8 bis 10 Minuten ist der Harnstoff zersetzt, und man kann nun den Stickstoff resp. das Ammoniak, wie früher geschildert, bestimmen.

Der Ammoniak wird in Freiheit gesetzt, mit Luft übergetrieben und in einem großen Reagenzglas aufgefangen. Man gibt gewöhnlich nur 3 *cm*³ des verdünnten *Nesslers* Reagenz hinzu, füllt in einem Meßkolben auf 10 *cm*³ auf, und nun wird, wie bei der Bestimmung des Gesamtnichteiweißstickstoffes, durch kolorimetrische Vergleichung der Stickstoffgehalt festgestellt. Man verwendet zur Vergleichung die gesamten 10 *cm*³.

5. Bestimmung des Ammoniaks im Blute (*Folin* und *Denis*[1]).

Um die sehr kleinen Mengen Ammoniaks zu bestimmen, die in so kleinen Blutquantitäten vorhanden sind, muß man den *Dubosque*schen Kolorimeter in einer besonderen Art verwenden. Der eine der Zylinder wird durch ein 100 *mm*-Polariskop ersetzt und unter den anderen Zylinder bringt man eine Irisblende. Diese dient zur Abblendung des Lichtes.

10 *cm*³ Blut des großen Kreislaufes oder 5 *cm*³ Blut aus der Pfortader resp. aus Mesenterialgefäßen werden in gewohnter Weise den Gefäßen entnommen und direkt mittelst der Pipette in große Jenenser Reagenzgläser übergeführt. Man fügt 2—3 *cm*³ einer Lösung von 15% Natriumoxalat und 10% Soda hinzu und 5 *cm*³ Toluol. Nun wird die Luft durchgejagt und der Luftstrom 20—30 Minuten ununterbrochen unterhalten. Das übergetriebene Ammoniak wird, wie oben geschildert, aufgefangen. Die Vorlage — ein großes Reagenzglas — wird mit 5—6 Tropfen von $\frac{n}{10}$-Säure und 1 *cm*³ Wasser beschickt. Der Inhalt des Reagenzglases wird dann, wie üblich, mit *Nesslers* Reagenz versetzt, wobei man nie mehr als 1 *cm*³ des verdünnten Reagenzes verwendet (Verdünnung 1 : 5). Die Lösung wird dann sorgfältig in einen 10 *cm*³ fassenden Meßkolben übergeführt. Es wird bis zur Marke aufgefüllt, gut gemischt und mit der Lösung das 100 *mm*-Polariskop beschickt.

Gleichzeitig mit dem Versetzen der zu bestimmenden Lösung mit *Nesslers* Reagenz gibt man es zu zwei Standardlösungen. Die eine enthält 0·5 *mg*, die andere 1 *mg* Stickstoff. Diese werden auf 100 *cm*³ aufgefüllt. Dann wird die eine oder andere angewandt. Man muß in diesem Falle die unbekannte Lösung unverändert lassen und die Farbe der Standardlösung ihr anpassen.

Bei der Ausführung der Bestimmung muß man das Diaphragma und das Kolorimeterprisma bewegen, bis man die richtige Stellung beider herausgefunden hat. Man muß ferner einen neuen Nullpunkt für den Zylinder

[1]) Journ. of Biol. Chem. Vol. 11. p. 535 (1912).

der Standardlösung feststellen, weil der alte durch das Einsetzen der Irisblende sich verändert hat.

6. Bestimmung der Harnsäure im Blut (*Folin* und *Denis*[1]).

20—30 *cm*³ Blut werden in einer Flasche, welche etwas pulverisiertes Kaliumoxalat enthält, gesammelt. (Stark schütteln, um Koagulieren zu verhindern.) Das Blut wird gewogen und in einen großen (1000 *cm*³) Kolben oder Becher gebracht, welcher 5mal das Gewicht des Blutes in $\frac{n}{100}$-Essigsäure enthält. Das Gemisch muß 3—4 Minuten kochen, um alles Protein zu koagulieren und wird sofort heiß filtriert. Das Filtrat soll vollkommen klar sein. Die koagulierte Masse wird mit einem Spatel vom Filter in den Kolben zurückgebracht und ca. 200 *cm*³ kochendes Wasser darüber gegossen. Man schüttle gut und filtriere. Die vereinigten Filtrate werden in eine Schale (Halbkugelform) gebracht, mit 5 *cm*³ einer 50%igen Essigsäure angesäuert und eingeengt. Das Abdampfen kann im Anfange über freier Flamme geschehen, aber gegen das Ende muß mit großer Vorsicht gearbeitet werden, um ein Verbrennen zu verhüten. Das Abdampfen wird so lange fortgesetzt, bis nur 3—4 *cm*³ Flüssigkeit übrig bleiben. Die Flüssigkeit wird in eine kleine Zentrifugenröhre (Urinröhre) gebracht, die Schale zweimal vorsichtig mit je 2—3 *cm*³ einer 0·1%igen Lithiumkarbonatlösung gewaschen und die Waschflüssigkeit in die Zentrifugenröhre gebracht. Zu dem Inhalt der Röhre, welcher 10 *cm*³ nicht überschreiten soll, werden 5 Tropfen einer 3%igen Silberlaktatlösung, 2 Tropfen Magnesiamixtur und genug starkes Ammoniak (10—20 Tropfen), um alles Silberchlorid zu lösen, gebracht. Es wird nun 1—3 Minuten zentrifugiert und die Flüssigkeit abgegossen. Zum Rückstande gebe man 4—5 Tropfen einer frisch bereiteten konzentrierten Schwefelwasserstofflösung, säure mit 1—2 Tropfen konz. HCl an, rühre mit einem Glasstabe um und erhitze die Röhre in einem Becher mit kochendem Wasser für 5—10 Minuten, um den Überschuß an H_2S zu vertreiben. Um sicher zu gehen, daß kein H_2S zurückgeblieben ist (auch wenn kein Geruch bemerkbar), füge man einen Tropfen einer 0·5%igen Bleiazetatlösung hinzu, wasche den Glasstab mit einer möglichst kleinen (einige Tropfen) Menge Wassers und zentrifugiere. Die Flüssigkeit wird in einen kleinen Becher abgegossen und die Wände der Röhre vorsichtig mit einer kleinen Menge (4—5 *cm*³) Wassers gewaschen, in solcher Weise, daß das Sediment nicht aufgerührt wird. Zur Flüssigkeit im Becher gebe man 2 *cm*³ des Harnsäurereagens (10) und 10, 15 oder 20 *cm*³ einer gesättigten Na_2CO_3-Lösung; die Menge dieser Lösung hängt davon ab, ob die Tiefe der erhaltenen blauen Farbung zur Kolorimeterbestimmung eine Verdünnung auf 25, 50 oder 100 *cm*³ notwendig macht. Zu gleicher Zeit behandle man 1 *mg* Harnsäure mit 2 *cm*³ Harnsäurereagens und Na_2CO_3-Lösung (20 *cm*³), verdünne auf 100 *cm*³

[1]) Journ. of Biol. Chem. Vol. **13**, p. 469 und Vol. **14**, p. 95 (1913).

und vergleiche die Farben im Kolorimeter. Die Berechnung der Menge Harnsäure geschieht, wie beim Harn (siehe oben).

Eine haltbare Standardharnsäurelösung kann auf folgende Weise bereitet werden. 1 *g* Harnsäure wird in einer Liter-Meßflasche im Überschuß von Lithiumkarbonat gelöst (200 *cm*³ einer 0·4%igen Lösung). Zu dieser Lösung gebe man 40 *cm*³ einer 40%igen Formaldehydlösung, schüttle und lasse einige Minuten stehen. Die klare Lösung wird mit 20 *cm*³ $\frac{n}{1}$-Essigsäure angesäuert und zur Marke mit Wasser aufgefüllt. Die Lösung soll klar bleiben und kann am nächsten Tage, nicht vorher, gegen eine frisch bereitete Harnsäurelithiumkarbonatlösung eingestellt werden. Die Farbe, die man durch 5 *cm*³ der Lösung erhält, entspricht nahezu der Farbe, die durch 1 *mg* Harnsäure erzeugt wird. Die Kolorimeterablesung, welche man durch diesen Vergleich der Lösung mit 1 *mg* reiner Harnsäure erhält, muß in allen darauffolgenden Bestimmungen als der 1 *mg* Harnsäure entsprechende Wert angenommen werden.

Die quantitative Bestimmung der Cl-Ionen im Blut.

Von **Berthold Oppler**, München.

Um den Cl-Gehalt des Blutes (eiweißhaltiger Lösungen) quantitativ zu bestimmen, mußte bisher die Veraschung der organischen Substanz der Fällung des Cl als Ag Cl voraufgehen. Die trockene Veraschung, welche speziell für die Cl-Bestimmung der feuchten Veraschung[1]) vorzuziehen ist, birgt indessen zwei Fehlerquellen. Sie führt leicht zu nachweisbaren Cl-Verlusten durch Verflüchtigung[2]) und findet unter Bedingungen statt, welche zur Bildung von Alkalicyanid führen müssen. Für genaue Bestimmungen ist daher die Trennung von AgCl und Ag CN notwendig. Ein weiterer Nachteil besteht darin, daß sich zwar der Gesamtchlorgehalt, aber nicht der Gehalt an Cl-Ionen ermitteln läßt. Letztere Bedingung erfüllt bei gleichzeitiger Vermeidung der erwähnten Fehler das zu schildernde Verfahren[2]), welches an Stelle der Veraschung die Ausfällung des Eiweißes mit Metaphosphorsäure[3]) bei gewöhnlicher Temperatur setzt. Verluste an Cl-Ionen durch Adsorption an Eiweiß finden in nachweisbarer Menge dabei nicht statt.

Die Entweißung mit Metaphosphorsäure.

Das Blut — 10—15 *g* — wird in einem verschließbaren, mit der erforderlichen Menge Ammoniumoxalat beschickten und dann gewogenen Wägeglas aufgefangen. Nach sorgfältiger Reinigung und Abkühlung auf Zimmertemperatur wird das Blutgewicht festgestellt. Mit einer genau gemessenen Wassermenge wird das Blut in einer verschließbaren Flasche 10—20fach verdünnt. Nach 1/2stündiger, durch Umschwenken unterstützter Auslaugung fügt man von einer höchstens wenige Tage alten, 1—5%igen, filtrierten Metaphosphorsäurelösung (Acid. phosphor. glaciale Merck) unter stetem Schütteln aus einer Bürette hinzu, bis die Lösung gegen Lackmus schwach sauer reagiert. Man fährt wiederum unter Schütteln mit dem Säurezusatz fort, bis der scharlachrote Niederschlag eine schmutzig-schokoladebraune Färbung annimmt. Nun läßt man die Säure die Glas-

---

[1]) Bd. 1 1. S. 385, 418; Bd. 5 2. S. 1049, 1074, 1076.

[2]) *Oppler*, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. **70**. S. 198 (1910).

[3]) Bd. 1/1. S. 201. Ausfällung mit Alkohol.

wand entlang in die Lösung tropfen, bis keine Trübung mehr erfolgt. Nach 4stündigem Stehen wird abgenutscht. Das klare Filtrat ist farblos bis ganz schwach gelb gefärbt.

In einem gemessenen, aliquoten Teil des Filtrats, welcher bei Anwendung von $^{1}/_{20}$ n-Lösungen (elektrolytische Bestimmung) nicht weniger als etwa 9 *g* Blut enthalten soll, erfolgt die Bestimmung der Cl-Ionen durch Wägung als Ag Cl oder durch Elektrolyse. Das letztere Verfahren verdient als das bequemere und genauere unbedingt den Vorzug. Gleichzeitige Fällung anderer Ag-Verbindungen findet nicht statt. Denn, wenn man das zuerst gravimetrisch (Glühen des Tiegels bis zur Gewichtskonstanz) bestimmte Ag Cl elektrolytisch zerlegt, so erhält man den berechneten Ag-Gehalt.

1. Die gravimetrische Bestimmung.[1]

Das eiweißfreie Filtrat wird in einem Jenaer Becherglas von 500 cm^3 Inhalt auf etwa 400 cm^3 verdünnt, mit einem möglichst geringen Überschuß von annähernd $^{1}/_{20}$ n-Ag NO_3 ausgefällt bei Anwesenheit von etwa 1·5% freier HNO_3. Das bedeckte Glas wird auf lebhaft siedendem Wasserbade so lange erhitzt, bis vollständige Klärung eingetreten ist und das Ag Cl eine fest zusammenhängende Masse bildet. Krümelige Beschaffenheit des Niederschlages tritt bei mangelhafter Enteiweißung ein und erschwert die Bestimmung. Dann wird auf Zimmertemperatur abgekühlt und stehen gelassen, bis die eintretende leichte Trübung sich nicht weiter vermehrt. Man dekantiert alsdann vorsichtig durch ein bei 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknetes Goochfilter nach *Vollers*[2]), welchem zum Schluß von unten her die letzten Flüssigkeitsanteile mit Filtrierpapier entzogen werden. Die Hauptmasse des Niederschlages, welche im Becherglase blieb, wird in NH_3 gelöst, wiederum mit Wasser auf etwa 400 cm^3 aufgefüllt und mit HNO_3 erneut gefällt. Die zweite Filtration erfolgt durch den gleichen Goochtiegel. Dabei ist Sorge zu tragen, daß jetzt möglichst der gesamte Niederschlag mit den letzten Anteilen der Flüssigkeit in den Tiegel gebracht wird. Mit nicht mehr als etwa 50 cm^3 1·5%iger HNO_3-Lösung von Zimmertemperatur wird ausgewaschen, dann bis zur Gewichtskonstanz bei 110° getrocknet.

2. Die elektrolytische Bestimmung.

Das als Ag Cl ausgefällte Cl wird in 4%iger Cyankalilösung (*Kahlbaum* pro analysi) elektrolytisch zersetzt, das an der Kathode abgeschiedene Ag in Ag NO_3 übergeführt und nach *Volhard* mit $^{1}/_{20}$ n-Rhodanlösung bestimmt. Dann besteht die Beziehung Rhodan = Ag = Cl. Bei Anwendung von $^{1}/_{200}$ n-Lösungen und zweckentsprechender Verringerung der angegebenen Flüssigkeitsmengen wird sich die Bestimmung mit 1·0 *g* Blut ca.

[1]) Vgl. Bd. 1. S. 416; Bd. 5/2. S. 1081.

[2]) Bd. 1. S. 104.

zweifellos ausführen lassen. Das Blut muß, um Vermischung mit Lymphe zu vermeiden, auch in diesem Falle einem Gefäß entnommen werden.

Man fällt, nachdem eine Aufschwemmung von sehr fein zerteiltem Asbest der Lösung hinzugefügt ist, das Cl in der soeben beschriebenen Weise, bringt den gesamten Niederschlag in den Goochtiegel, welcher weder getrocknet noch gewogen wird, trocknet den Tiegel von unten her mit Filtrierpapier und entleert alsdann den gesamten Tiegelinhalt wiederum in das Becherglas. Durch Zusatz des Asbests erhält man nach 1—2 Stunden filtrierbares AgCl in leicht getrübter Lösung (abkühlen!). Der Goochtiegel, welcher in einem Glastrichter steht, wird zu diesem Zweck mit NH_3-Lösung quantitativ in das darunter gesetzte Becherglas ausgespült. Es folgt nun die zweite Fällung. Inzwischen bereitet man ein neues Goochfilter, bringt das Gemenge von AgCl und Asbest quantitativ in den Tiegel und wäscht Glas und Tiegel mit 50 *cm*³ 1·5%iger Salpetersäure, welche reichlich Ammoniumnitrat enthält. Die Hauptmenge des feuchten Tiegelinhaltes wird in das als Kathode dienende Gefäß gebracht und daraus die freie HNO_3 durch Erhitzen auf dem Wasserbade vertrieben. Der Niederschlag wird alsdann, eventuell unter schwachem Erwärmen, in 4%iger Cyankalilösung aufgelöst. Vermittelst eines Glasstabes und mit Cyankalilösung befeuchteten Filtrierpapiers wird der Tiegel ausgewischt und mit Cyankalilösung nachgespült. Papier und Spülflüssigkeit werden in das Kathodengefäß gebracht, dessen Inhalt gut zu durchmischen ist.

Für die Ausführung der Elektrolyse mit stehenden Elektroden oder besser noch mit rotierender Anode, mit im magnetischen Feld rotierender Flüssigkeit bei stehenden Elektroden gelten die gebräuchlichen Vorschriften.[1])

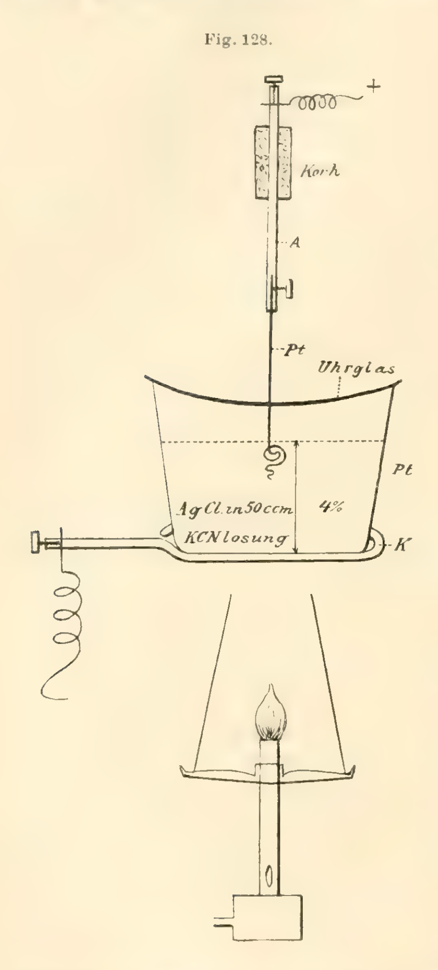
Bei beschränkten Mitteln empfiehlt sich nebenstehende, im Abzug anzuordnende Apparatur.

Als Stromquelle dient ein Akkumulator oder die Gleichstromlichtanlage. Zwischen Stromquelle und elektrolytische Zelle wird ein passender, regulierbarer Schieberwiderstand und ein Ampèremesser (Gebr. *Ruhstrat*, Göttingen) eingeschaltet, dessen Skalenintervall 0·01—0·02 Ampère entspricht. Als Anode dient eine 0·5 *mm* starke Platinspirale, welche in den mit 2 Klemmschrauben versehenen Aluminiumstab *A* eingesetzt wird. Dieser ist verschieblich durch einen Korkstopfen hindurchgeführt, welcher vermittelst einer Klammer an einem Glasstabstativ mit Metallfuß befestigt wird. Als Kathode dient eine Platinschale (Platinblech mit angeschweißtem Draht in einem Becherglas) von etwa 90 *cm*³ Inhalt, welcher der Strom durch den ebenfalls am Stativ befestigten Aluminiumring *K* zugeleitet wird. Die Schale wird mit einem geteilten, in der Mitte zuvor durchbohrten Uhrglas bedeckt. Der Mikrobrenner wird so eingestellt, daß die Temperatur der Lösung sich dauernd zwischen 50 und 60° C hält. Die Stromstärke betrage 0·2—0·4 Ampère. Stromschwankungen sind möglichst zu ver-

[1]) *Edgar F. Smith*, Elektroanalyse.

meiden. Von Zeit zu Zeit wird für Ersatz des verdunstenden Wassers durch Aufspritzen auf das Uhrglas gesorgt. Der Rand der *Pt*-Schale ist von anhaftendem Alkali eventuell mit feuchtem Filtrierpapier zu säubern, welches man alsdann in die Schale wirft. Für die Zerlegung von 0·24 *g* Ag Cl genügen 8 Stunden. Ist der Prozeß beendet, so entfernt man die Flamme, dann das Uhrglas und zieht, indem man gleichzeitig den Strom unterbricht, die Anode aus der Lösung. Nun entleert man möglichst schnell den Schaleninhalt in ein bereit gestelltes Becherglas und spült die Schale mit destilliertem Wasser gründlich aus. Der getrocknete Silberniederschlag muß von gleichmäßig weißer Farbe sein und so fest an der Schale haften, daß er durch Wischen sich nicht entfernen läßt.

Fig. 128.



Die Silberbestimmung nach *Volhard.*[1])

Das abgeschiedene Ag wird in sehr wenig verdünnter HNO_3 auf dem Wasserbade vorsichtig gelöst und durch Eindampfen zur Trockne von salpetriger Säure befreit. Die quantitativ in ein *Erlenmeyer*-Kölbchen überführte $Ag\,NO_3$-Lösung — 50—70 cm^3 —, welche durch Asbest leicht getrübt erscheint, wird mit 3 Tropfen ausgekochter, kalter, konzentrierter HNO_3 angesäuert, alsdann mit 2 Tropfen kalt gesättigter Ferriammonsulfatlösung versetzt und mit $^1/_{20}$ n-Rhodanammonlösung (*Kahlbaum* pro analysi mit Garantieschein) unter Schütteln titriert. Die Ausfällung ist beendet, sobald auf Zusatz eines weiteren Tropfens der Rhodanlösung eine eben erkennbare, lichtbraune Verfärbung eintritt. Auf Zusatz eines Tropfens $^1/_{20}$ n-$Ag\,NO_3$-Lösung muß Rückumschlag in reines Weiß erfolgen.

Berechnung.

Es sei

a = verbrauchte $^1/_{20}$ n-Rhodanatlösung in Kubikzentimeter (Titer 1·0000),

---

[1]) Bd. 1. S. 417.

L = Gesamtflüssigkeit.
b = Blut in Gramm.
l = aliquoter Teil.
Cl_5 = 5faches Atomgewicht von Cl (bei Anwendung von $^1/_{20}$ n-Lösungen),
x = Cl' % im Blut.

Dann ist

$$x = \frac{a.L}{b.l.100} \cdot \frac{Cl_5}{10}.$$

Beispiel.

Blut = b = 57·30 *g*.
H_2O = 500·0 *cm*³.
Metaphosphorsäure = 38·0 „
L = 595·3 *cm*³
l = 150·0 „

Es wurden verbraucht $^1/_{20}$ n-Rhodanatlösung (num. log des Titers 99 940): 23·80 *cm*³.

Zum 2maligen Zurücktitrieren verbraucht $^1/_{20}$ n-Silberlösung (num. log des Titers 00 000): 0·15 *cm*³.

Demnach ist a = 23·62 *cm*³ $^1/_{20}$ n-Rhodanatlösung = Cl' im Blut = = 0·290%.

Darstellung und Nachweis der Glukoside.

Von **Géza Zemplén**, Selmeczbánya.

Synthese der Glukoside.

Bei der synthetischen Darstellung der Glukoside kann man drei Wege einschlagen. Das erste und zuerst gut ausgearbeitete Verfahren beruht auf der Kupplung des Zuckers mit dem betreffenden Alkohol mit Hilfe von Salzsäure.[1]) Die Methode hat zur Auffindung zahlreicher Glukoside geführt. Sie besitzt aber den Nachteil, daß sie zu ein Gemisch der zwei möglichen stereoisomeren Glukoside führt.

Nehmen wir als Beispiel die Darstellung des Methylglukosids (A), so entstehen gleichzeitig folgende zwei stereoisomere Formen:

$CH_3 . O . CH$	$H—C—O . CH_3$
$H—C—OH$	$H—C—OH$
$HO—C—H$ $>O$	$HO—C—H$ $>O$
$H—C$	$H—C$
$H—C—OH$	$H—C—OH$
$CH_2 . OH$	$CH_2 . OH$

Man bezeichnet sie mit den Buchstaben α und β. Die β-Derivate sind in vielen Fällen erkennbar dadurch, daß sie durch Emulsin hydrolysiert werden. Bei der Darstellung der Alkoholglukoside mittelst Salzsäure erhält man vorwiegend die α-Form, während die β-Form in den Mutterlaugen bleibt. Als Beispiel ist die Darstellung der beiden Methyl-d-Glukoside beschrieben (A).

Ein Nachteil dieser Methoden ist, daß die Trennung der beiden stereoisomeren Formen nicht immer glückt und oft mit Kristallisations-

---

[1]) *Emil Fischer*, Über die Glukoside der Alkohole. Ber. d. Deutschen chem. Ges. Bd. **26**. S. 2400 (1893); Über die Verbindungen der Zucker mit den Alkoholen und Ketonen. Ber. d. Deutschen chem. Ges. Bd. **28**. S. 1145 (1875).

schwierigkeiten zu kämpfen hat. Außerdem erlaubt die Darstellung dieser Methode nur die Gewinnung von Glukosiden der Monosacchariden, denn die höheren Zucker werden durch die Salzsäure hydrolysiert.

Auf diesem Wege wurden unter anderem folgende kristallisierte Glukoside erhalten:

	Formel	Schmelzpunkt	$[\alpha]_D^{20^0}$	Spaltungen mit Fermenten (Emulsin oder Invertin)
α-Methylarabinosid . . .	$C_6 H_{12} O_5$	169—171⁰	+245·70⁰	0
β-Methylarabinosid . . .	$C_6 H_{12} O_5$	115—117⁰	+ 73·24	
Äthylarabinosid	$C_7 H_{14} O_5$	132—135⁰		0
Benzylarabinosid	$C_{12} H_{16} O_5$	169—170⁰	+215·2⁰	0
β-Methylxylosid	$C_6 H_{12} O_5$	155—156⁰	— 65·9⁰	0
α-Methylxylosid	$C_6 H_{12} O_5$	90—92⁰	+153·2⁰	0
Methyl-rhamnosid . . .	$C_7 H_{14} O_5$	108—109⁰	— 62·5⁰	0
α-Methylglukosid	$C_7 H_{14} O_6$	165—166⁰	+157·5⁰	mit Invertin Hydrolyse
β-Methyl-d-glukosid . . .	$C_7 H_{14} O_6$	108—110⁰	— 31·85⁰	mit Emulsin Hydrolyse
α-Äthyl-d-glukosid . . .	$C_8 H_{16} O_6$	113—114⁰	+150·6⁰	mit Invertin +
α-Methyl-l-glukosid . . .	$C_7 H_{14} O_6$	165—166⁰	—156·9⁰	0
β-Methyl-l-glukosid . . .	$C_7 H_{14} O_6$	?	?	0
α-Methyl-d-mannosid . .	$C_7 H_{14} O_6$	193—194⁰ (korr.)	+ 79·2⁰ bei C = 8	
α-Methyl-l-mannosid . .	$C_7 H_{14} O_6$	193—194⁰ (korr.)	— 79·4⁰ bei C = 8	
α-Methyl-d-galaktosid . .	$C_7 H_{14} O_6$	110⁰	+179·3⁰	
β-Methyl-d-galaktosid . .	$C_7 H_{14} O_6$	173—176⁰	+ 2·6⁰	Emulsin +
α-Äthylgalaktosid . . .	$C_8 H_{16} O_6$	138—139⁰	+178·75⁰	
Methyl-d-sorbosid . . .	$C_7 H_{14} O_6$	120—122⁰	— 88·5⁰	
Methyl-l-sorbosid	$C_7 H_{14} O_6$	119⁰	+ 88·5⁰	
α-Methyl-d-glukoheptosid	$C_8 H_{16} O_7$	168—170⁰	— 74·9⁰	

Außerdem wurden folgende Glukoside amorph erhalten: Glukonsäurearabinosid, Arabinoseresorzin, Arabinosebrenzkatechin, Arabinose-Phlorogluzin, Arabinose-Pyrogallol, Xylose-Resorzin, Xylose-Phlorogluzin, Äthylrhodeosid, Äthylchinovosid, Glyzeringlukosid, Milchsäureglukosid, Glyzerinsäureglukosid, Glukonsäureglukosid, Benzylglukosid, Glukose-Resorzin, Glukose-Pyrogallol, Glukose-Phlorogluzin, Glukose-Orzin, Mannose-Phlorogluzin, Galaktosidoglukonsäure, Galaktosido-resorzin, Galaktosido-Phlorogluzin, Methylfruktosid, Fruktose-Resorzin, Fruktose-Phlorogluzin, Sorbose-resorzin, Sorbose-Phlorogluzin.

Die bequemere Darstellung der Glukoside beruht auf die Anwendung der Azetohalogenverbindungen der Zucker, die sich in Gegenwart von Silberkarbonat mit dem betreffenden Alkohol leicht zu den entsprechenden Azetylderivaten der gewünschten Glukoside vereinigen. Statt des Silberkarbonates kann man frisch dargestelltes, im Exsikkator sorgfältig ge-

trocknetes Silberoxyd verwenden.[1]) Durch Verseifung der Azetylgruppen erhält man dann in den meisten Fällen ohne besondere Schwierigkeiten das kristallisierte Glukosid. Will man Säuren mit dem Azetohalogenzucker kuppeln, so nimmt man statt der Säure den Äthylester.[2]) Leider gestattet diese Methode nur die Gewinnung der Glukoside der β-Reihe, indem nur die Azetohalogenverbindungen der β-Reihe einstweilen einer sicheren Darstellung zugänglich sind.

Zwar hatten *Emil Fischer* und *E. F. Armstrong*[3]) früher gefunden, daß aus der α-Pentaazetylverbindung der Glukose eine Azetochlorglukose entsteht, die 10° niedriger schmilzt als die β-Verbindung und mit Methylalkohol und Silberkarbonat und nachheriger Verseifung mit Baryt in α-Methylglukosid (Schmelzpunkt 165—166°) umgewandelt wird. Bei der Wiederholung der Versuche ist es aber später[4]) nicht mehr gelungen, das alte Resultat wieder zu bekommen. Die Einwirkung von flüssigem Chlorwasserstoff auf α-Pentazetylglukose, die unter verschiedenen Bedingungen ausgeführt wurde, hat immer nur zu Produkten geführt, die bei völliger Reinigung die Eigenschaften der β-Azetochlorglukose zeigten. Insbesondere wurde vergebens versucht, aus den unreinen Kristallisationen oder sirupösen Rohprodukten durch Methyalalkohol und Silberkarbonat wieder α-Methylglukosid resp. seine Azetylverbindung darzustellen.

Da α- und β-Methylglukosid nicht zu verwechseln sind und deshalb in dieser Beziehung bei den früheren Versuchen jeder Irrtum ausgeschlossen scheint, so dürfte hier einer der in der Zuckergruppe nicht ganz seltenen Zufälle gewaltet haben, dessen Herbeiführung später nicht mehr möglich war. Vielleicht handelt es sich um den katalytischen Einfluß gewisser Verunreinigungen, oder es ist bei der Verwandlung der Chlorverbindung in das Methylglukosid eine andere sterische Gruppierung als bei den neueren Versuchen eingetreten. Tatsache ist, daß die Darstellung der α-Azetochlorglukose nach der alten Vorschrift nicht mehr geglückt ist und deshalb nicht als eine sicher ausführbare Operation gelten kann. Demnach ist der Weg zur Synthese der Glukoside der α-Reihe nach

[1]) *Emil Fischer* und *Burckhardt Helferich*, Über neue synthetische Glukoside. *Liebig*s Annalen. Bd. **383**. S. 68—91 (1911).

[2]) *Emil Fischer* und *Burckhardt Helferich*, Über neue synthetische Glukoside. *Liebig*s Annalen. Bd. **383**. S. 68—91 (1911). — *F. Mauthner*, Die Synthese der Glukosyringasäure. Journal f. prakt. Chem. Bd. **82**. S. 271 (1910); Die Synthese der Glukovanillinsäure und der Glukoparaoxybenzoesäure. Journal f. prakt. Chem. Bd. **83**. S. 556 (1911).

[3]) *Emil Fischer* und *E. Frankland Armstrong*, Über die isomeren Azetohalogenderivate des Traubenzuckers und die Synthesen der Glukoside. I. Ber. d. Deutschen chem. Ges. Bd. **34**. S. 2885 (1901). — Das alte Verfahren von *Michael* (American Chemical Journal. Vol. **1**. p. 305 [1879]; Vol. **6**. p. 336 [1884]) zur Bereitung der Phenolglukoside ist von *Emil Fischer* erheblich verbessert und verallgemeinert worden.

[4]) *Emil Fischer*, Notiz über die Azetohalogenglukosen und die p-Bromphenylosazone von Maltose und Melibiose. Berichte d. Deutsch. chem. Ges. Bd. **44**. S. 1898 bis 1904 (1911).

der bequemen Methode der Azetohalogenverbindungen noch nicht eröffnet.

Auf diesem Wege wurden unter anderem folgende Glukoside dargestellt:

	Formel	Schmelzpunkt	Drehung $[\alpha]_D^{20}$	Spaltung durch Fermente
β-Amylenhydratglukosid	$C_{11}H_{22}O_6 + H_2O$	126—127°	—17·2°	Emulsin +
β-Mentholglukosid . .	$C_{16}H_{30}O_6 + H_2O$	77—79°	—91·9°	Emulsin +
β-d-Borneolglukosid .	$C_{16}H_{28}O_6 + H_2O$	134—136°	—42·2°	Emulsin schwer
β-Methylmaltosid . .	$C_{13}H_{24}O_{11}$	93—95°	etwa 70°	Emulsin +
β-Methyllaktosid . . .	$C_{13}H_{24}O_{11}$	170—171°		
β-Benzyl-d-glukosid .	$C_7H_7 . O . C_6H_{11}O_5$	123—125° (korr.)	—55·76°	Emulsin +
β-Cycloxanol-d-glukosid	$C_6H_{11} . O . C_6H_{11}O_5$	133—137° (korr.)	—41·43°	Emulsin +
β-Geraniol-d-glukosid .	$C_{10}H_{17}O . C_6H_{11}O_5$	gegen 58°	$[\alpha]_D^{27} = -37·25°$	Emulsin +
β-Cetyl-d-glukosid . .	$C_{16}H_{33} . O . C_6H_{11}O_5$	gegen 145°, sintert schon bei 78°	$[\alpha]_D^{24} = -22·02°$	Emulsin 0
β-d-Glukosidoglykolsäure	$C_6H_{11}O_5 . O . C . H_2 . COOH$	165—167° (korr.)	$[\alpha]_D^{21} = -43·79°$	Emulsin 0
β-Menthol-maltosid . .	$C_{22}H_{40}O_{11}$	203° (korr.)	+14·23°	
β-Glykol-d-glukosid .	$C_8H_{16}O_7$	137—138° (korr.)	—30·2°	Emulsin +

Als Beispiel ist die Darstellung von Glykol-d-Glukosid beschrieben. Um die Methode aber vollkommen kennen zu lernen, ist die Bereitung der Azetohalogenverbindungen ebenfalls beschrieben (Kapitel B).

In anderen Fällen kann man im Besitze des gewünschten Glukosids gelangen, indem man den Azetohalogenkörper in Äther löst und mit dem Natriumsalze des Aglykons in Wasser gelöst schüttelt. Als Beispiel soll die Darstellung des Glukovanillins (Vanillin-d-glukosid) beschrieben werden (C). In dem beschriebenen Fall reagiert das trockene Kalium- oder Natriumsalz des Vanillins mit Azetobromglukose, die in trockenem Äther gelöst ist, gar nicht.

Nach dieser Methode gelang unter anderem die Darstellung folgender Glukoside:

	Formel	Schmelzpunkt	Drehung $[\alpha]^{20^0}_D$	Spaltung durch Fermente
β-Phenolglukosid	$C_{12}H_{16}O_6$	174—175° (korr.)	—71°	Emulsin +
β-o-Kresolglukosid . . .	$C_{13}H_{18}O_6$	163—165°		Emulsin +
β-m-Kresolglukosid . . .	$C_{13}H_{18}O_6$	167—168·5°		
β-p-Kresolglukosid . . .	$C_{13}H_{18}O_6$	175—177°		Emulsin +
β-Carvacrolglukosid . . .	$C_{16}H_{24}O_6 + \frac{1}{2} H_2O$	135°		Emulsin +
β-Thymolglukosid . . .	$C_{16}H_{24}O_6 + H_2O$	100°		Emulsin +
β-α-Naphtolglukosid . .	$C_{16}H_{18}O_6 + H_2O$	147°		Emulsin +
β-β-Naphtolglukosid . .	$C_{16}H_{18}O_6$	184—186°		Emulsin +
Guajakolglukosid	$C_{13}H_{18}O_7$	157°		
Eugenolglukosid	$C_{16}H_{22}O_7$	132°		
β-α-Naphtolgalaktosid . .	$C_{16}H_{18}O_6$	202—203°		
β-Vanillinglukosid . . .	$C_{14}H_{18}O_6 + 2 H_2O$	192°		Emulsin +
β-Phloroglucin-d-glukosid (Phlorin)	$C_{12}H_{16}O_8$	239° (korr.)	—74·79°	Emulsin +
β-Resorcin-d-glukosid . .	$C_{12}H_{16}O_7$	190° (korr.)	—70·4°	Emulsin +
β-2, 4, 6-Tribromphenol-glukosid	$C_{12}H_{13}O_6Br_3$	207—208°		
Gluko-p-oxyacetophenon .	$C_{14}H_{18}O_7$	195—196°	—87·82°	
Gluko-p-oxybenzaldehyd .	$C_{13}H_{16}O_7$	157—158°	—94·45°	
Gluko-p-oxybenzoesäure .	$C_{13}H_{16}O_8$	211—212°		

In einigen Fällen konnte mit Vorteil die Vereinigung des Azetohalogenzuckers mit dem Alkohol in Gegenwart von Pyridin ausgeführt werden. Nach dieser Methode wurden verschiedene Glukoside des Glukosamins gewonnen.[1])

Eine sehr bequeme Methode der Darstellung von Alkoholglukosiden ist die biochemische Synthese.[2]) Zu diesen Versuchen verwendet man ein Emulsinpräparat aus süßen Mandeln, das man zu der Lösung des Zuckers in dem betreffenden Alkohol fügt. Unter den angegebenen Bedingungen bewirkt das Ferment die Bildung der betreffenden Alkoholglukoside.

Die Methode hat große Vorteile gegen die chemischen. Bei dieser enzymatischen Synthese entstehen nämlich nur β-Glukoside, während die Vereinigung des Alkohols mit dem Zucker mittelst Salzsäure, wie bekannt,

[1]) *James Colquhoun Irvine, David Mc. Nicoll* und *Alexander Hynd*, Neue Derivate des d-Glukosamins. Journal chemical Society London. Vol. **99**. p. 250—261 (1911). — *James Colquhoun Irvine* und *Alexander Hynd*, Synthetische Aminoglukoside aus Glukosamin. Journal of the Chemical Society. Vol. **103**. p. 41—56 (1912).

[2]) La synthèse des Glucosides à l'aide de l'Émulsine. Leçon d'ouverture du cours de Pharmacie Galénique à l'école supérieure de pharmacie de Paris, le 15 novembre 1912. Paris.

zu einem Gemisch der beiden stereoisomeren α- und β-Glukoside führt. Außerdem fügt man dem Reaktionsgemisch keine fremden Substanzen zu, und die Synthese vollzieht sich bei Zimmertemperatur. Indem das Ferment in den Alkoholen praktisch unlöslich ist, enthält das klare Filtrat ein Gemisch des Zuckers und des Glukosids, wobei aber das Glukosid vorwiegt. Aus dem Rückstand nach dem Eindampfen kann das Glukosid mit Essigäther meistens herausgelöst werden. Auf diesem Wege konnte eine ganze Reihe von β-Glukosiden dargestellt werden. Viele von diesen können im kristallinischen Zustande nach der Salzsäuremethode überhaupt nicht oder nur mit großen Schwierigkeiten und Verlusten an Substanz erhalten werden.[1] Die Konzentration des zu verwendenden Alkohols muß ungefähr 80—90%ig sein. Da das Emulsin der Mandeln auch eine Laktose enthält, die in alkoholischen Lösungen ebenfalls zu synthetisierenden Wirkungen fähig ist, so ist auf diesem Wege die Synthese der Galaktoside ebenfalls eröffnet, wie es auf dem Beispiel der Darstellung des β-Äthylgalaktosids gezeigt wird.

Die Beispiele zu der biochemischen Synthese der Alkoholglukoside sind im Kapitel (D) zu finden.

Die Methode hat bis jetzt zur Darstellung folgender Glukoside geführt:

β-Methylglukosid, außerdem:

β-Äthylglukosid.[2]) Schmelzpunkt + 73°. Sehr hygroskopisch. $[\alpha]_D^{18^\circ} = -33^\circ 58$ (p = 2·1466, v = 100).

β-Propylglukosid.[2]) Nadeln. Schmelzpunkt 95—97°. Ziemlich hygroskopisch. Schmeckt bitter. $[\alpha]_D^{18^\circ} = -34^\circ 99$ (p = 2·1906, v = 100).

β-n-Butylglukosid.[3]) Farblose Nadeln. Schmeckt bitter. $[\alpha]_D^{22^\circ} = -35^\circ 4$.

β-Isobutylglukosid.[3]) Farblose Nadeln. Schmelzpunkt 99—100°. Sehr bitter. $[\alpha]_D^{22^\circ} = -34^\circ 96$ (p = 0·4004, v = 15).

β-Allylglukosid.[3]) Farblose Nadeln. Schmelzpunkt 97°. Sehr leicht löslich in Wasser und Alkohol, löslich in Azeton und Essigäther, wenig löslich in gewöhnlichem Äther. $[\alpha]_D^{20^\circ} = -40^\circ 34$ in 2·479%iger wässeriger Lösung.

β-Benzylglukosid.[4]) Feine Nadeln. Nicht hygroskopisch. Schmelzpunkt + 106°.

---

[1]) La synthèse des Glucosides à l'aide de l'Émulsine. Leçon d'ouverture du cours de Pharmacie Galénique à l'école supérieure de Pharmacie de Paris, le 15 novembre 1912. Paris.

[2]) *Em. Borquelot* et *M. Bridel*, Synthèse de glucosides d'alcools à l'aide de l'émulsine IV. Metylglucoside β, éthylglucoside β, propylglucoside β. Journ. de Pharm. et de chimie [7]. T. **6**. p. 97 (1912).

[3]) *Em. Bourquelot* et *M. Bridel*, Synthèse de glucosides d'alcools à l'aide de l'émulsine VI. Butylglucoside β, isobutylglucoside β et éthylglucoside β. Journ. de Pharm. et de chimie [7]. T. **6**. p. 193 (1912).

[4]) *Em. Bourquelot* et *M. Bridel*, Synthèse de glucosides d'alcools à l'aide de l'émulsine VII. Benzylglucoside β. Journ. de Pharm. et de chimie [7]. T. **6**. p. 298 (1912).

Sehr leicht löslich in Wasser und Alkohol, ziemlich löslich in Essigäther, nahezu unlöslich in gewöhnlichen Äther. $[\alpha]_D = -49.78^0$ in 1·225%iger wässeriger Lösung.

β-Isopropylglukosid.[1]) Farblose Nadeln. Schmelzpunkt 123—125°. Sehr leicht löslich in Wasser, Alkohol und in Essigäther. $[\alpha]_D^{18^0} = -36.3^0$ in 2·067%iger wässeriger Lösung.

β-Isoamylglukosid.[1]) Farblose Nadeln. Schmelzpunkt 99—100°. $[\alpha]_D^{17^0} = -36^0 40$ in 2·1973%iger wässeriger Lösung.

β-Äthylgalaktosid.[2]) Feine farblose Nadeln. Schmelzpunkt 123—125°. Sehr leicht löslich in Wasser und in Alkohol. $[\alpha]_D = -4^0$ in 4·573%iger wässeriger Lösung.

Synthesen mit α-Glukosidase der Hefe lassen sich ebenfalls ausführen. Man muß nur die Konzentration des Alkohols geringer nehmen als bei den Synthesen mit Emulsin. So ließ sich aus 200 cm^3 einer 10%igen wässerigen Mazeration von untergäriger Bierhefe, 200 cm^3 einer 10%igen Glukoselösung, 48 cm^3 Wasser, 200 cm^3 90%igem Alkohol und 1352 cm^3 30%igem Alkohol bei 15—18° im Laufe von 20 Tagen α-Äthylglukosid in kristallinischer Form gewinnen. Ausbeute 33%. Nach dieser Methode kann man die α-Glukoside der Alkohole darstellen.[3])

A. Darstellung von α- bzw. β-Methyl-d-glukosid aus d-Glukose mit Methylalkohol und Salzsäure.[4])

1 Teil wasserfreier, fein gepulverter Traubenzucker wird in 4 Teilen käuflichen, azetonfreien Methylalkohol, welcher über Kalziumoxyd getrocknet ist und 0·25% gasförmige Salzsäure enthält, durch Kochen am Rückflußkühler gelöst. Diese Operation dauert ½—1 Stunde. Die schwach gelbe Lösung wird im geschlossenen Rohr oder bei größeren Mengen im Autoklaven 50 Stunden lang auf 100° erhitzt und dann auf ½ ihres Volumens eingedampft. Beim längeren Stehen oder rascher auf Zusatz einiger Kristalle fällt das α-Methylglukosid in farblosen, kleinen Nadeln aus und die Menge beträgt nach 12 Stunden etwa 45% des angewandten Zuckers. Die Mutterlauge enthält noch weitere Mengen der α-Verbindung und daneben viel β-Glukosid. Handelt es sich nur um die Gewinnung der

[1]) *Em. Bourquelot* et *M. Bridel*, Synthèse de glucosides d'alcools à l'aide de l'émulsine VIII. Isopropylglucoside β et isoamylglucoside β. Journ. de Pharm. et de chimie [7]. T. **6**. p. 442 (1912).

[2]) *Em. Bourquelot* et *M. Bridel*, Synthèse de galactosides d'alcools à l'aide de l'émulsine. Ethylgalactoside β. Journ. de Pharm. et de chimie [7]. T. **6**. p. 385 (1912).

[3]) *Em. Bourquelot*, *H. Hérissey* und *M. Bridel*, Biochemische Synthese der Alkylglukoside (α-Glukoside) mit Hilfe eines Enzyms (α-Glukosidase), welches in der an der Luft getrockneten untergärigen Bierhefe enthalten ist: α-Äthylglukosid. Comptes rendus. T. **156**. p. 168—170 (1913).

[4]) *Emil Fischer*, Über die Verbindungen der Zucker mit den Alkoholen und Ketonen. Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. **28**. S. 1145 (1895).

ersteren, so versetzt man die Mutterlauge nochmals mit 2½ Teilen des obigen salzsäurehaltigen Methylalkohols, erhitzt wieder 40 Stunden auf 100° und konzentriert die Lösung von neuem. Bei längerem Stehen fällt dann abermals so viel α-Methylalkohol aus, daß die Gesamtausbeute auf 75—80% des angewandten Zuckers steigt, und durch Wiederholung der Operation läßt sich die Operation noch steigern, da immer von neuem α-Methylglukosid aus den anderen Produkten entsteht. Zur Reinigung des Rohproduktes genügt einmaliges Umkristallisieren aus 18 Teilen heißem Äthylalkohol. Durch langsames Verdunsten der wässerigen Lösung erhält man dasselbe in prachtvollen, scharf ausgebildeten und mehrere Zentimeter langen Kristallen.

An Stelle des Traubenzuckers kann man zu seiner Bereitung auch die Stärke verwenden. Beim 15stündigen Kochen mit der 10fachen Menge Methylalkohol, welcher 1% Salzsäure enthält, wird dieselbe fast vollkommen gelöst und die wie oben behandelte Flüssigkeit gibt eine große Ausbeute an α-Methylglukosid.

Will man das β-Methylglukosid gleichzeitig bereiten, so verdampft man die erste Mutterlauge zum Sirup und läßt mehrere Wochen kristallisieren, oder man versetzt dieselbe bis zur Trübung mit Äther und überläßt sie bei niederer Temperatur 3—8 Tage der Kristallisation. Die von dem Sirup durch Absaugen und Pressen oder durch Zentrifugieren getrennte Kristallmasse ist stets ein Gemisch von α- und β-Glukosid, welche man schon an der Kristallform unterscheiden kann. Zur Trennung derselben kristallisiert man in Fraktionen zuerst aus absolutem und dann aus 80%igem Alkohol unter Berücksichtigung der Löslichkeit der beiden Glukoside. α-Methylglukosid löst sich in 200 Teilen absoluten, 62·5 Teilen 90%igen und in 13·69 Teilen 80%igen Alkohols, β-Methylglukosid leichter in 66·7 Teilen absoluten, in 23·8 Teilen 90%igen und in 11·76 Teilen 80%igen Alkohols.

B. I. Darstellung der Azetohalogenverbindungen der Zucker.

Man kann bei der Darstellung zwei Wege einschlagen. Der eine führt direkt aus dem Zucker durch Behandlung mit Azetylbromid zu der Azetohalogenverbindung (Beispiel 1). Die zweite Methode verlangt zunächst die Azetylierung des Zuckers, und nach der Isolierung des kristallisierten Azetates wird erst mit Bromwasserstoff der gewünschte Azetohalogenkörper erhalten (Beispiel 2).

Die Darstellung der Azetohalogenverbindungen der Zucker aus dem trockenen Zucker mit Azetylbromid bei gewöhnlicher Temperatur gibt nur bei der Darstellung der Azetobromglukose sichere und gute Resultate. Bei der Gewinnung der entsprechenden Derivate der Disaccharide versagt oft die Methode, indem das Reaktionsprodukt oft gar keine Neigung zur Kristallisation zeigt, ohne daß die Ursachen der Erscheinung genau ermittelt worden wären. Demnach ist bei der Darstellung der Azetohalogenderivate der Disaccharide die Überführung des entsprechenden

Oktaazetylkörpers mit Bromwasserstoff-Eisessig vorzuziehen. Bedenkt man außerdem den geringen Preis der Materialien und die Sicherheit der Operation, besonders wenn es sich um größere Mengen handelt, so wird man dem zweiten Verfahren den Vorzug geben.[1])

1. Darstellung von β-Azetobromglukose aus Glukose und Azetylbromid.[2])

5 *g* reiner, wasserfreier, fein gepulverter und gesiebter Traubenzucker, der bei 100° getrocknet war, werden mit 17 *g* Azetylbromid (5 Mol.) in einem mit Glaskugeln beschickten langhalsigen Rundkolben digeriert, der mittelst einer kleinen Turbine in Rotation gehalten und durch ein Chlorkalziumrohr vor Zutritt von Feuchtigkeit geschützt wird. Nach kurzer Zeit tritt bei Zimmertemperatur Entwicklung von Bromwasserstoff ein. Man kühlt nun zweckmäßig den Kolben mit Eiswasser und läßt denselben unter Lichtabschluß so lange rotieren, bis aller Traubenzucker gelöst ist, was nach etwa 6 Stunden der Fall ist. Das sirupöse, schwach gelblich gefärbte Reaktionsprodukt wird dann in reinem Äther aufgenommen, die ätherische Lösung mit Eiswasser, dem etwas Bisulfit zugesetzt ist, darauf mit eiskalter überschüssiger Sodalösung und schließlich wiederum mit Eiswasser geschüttelt und mit geglühtem Natriumsulfat getrocknet. Läßt man nun die abfiltrierte Lösung unter vermindertem Druck verdampfen, so scheidet sich die Azetobromglukose als schwach gelbliche Kristallmasse ab: dieselbe wird zwischen Filtrierpapier scharf ausgepreßt. Die Menge des Bromderivates beträgt 3·9 *g*. Zur völligen Reinigung wird dasselbe nochmals aus reinem, völlig trockenem Äther umkristallisiert, bis es den konstant bleibenden Schmelzpunkt 88—89° zeigt. Die Ausbeute beträgt im besten Fall 2·9 *g*, also 58% vom Traubenzucker.

Die Operation läßt sich nach einiger Übung mit größeren Mengen und in kürzerer Zeit mit einer Ausbeute von rund 50% des Traubenzuckers ausführen.

2. Darstellung von β-Glukosepentaazetat durch Azetylierung mit Essigsäureanhydrid und Natriumazetat.[3])

Man erwärmt 20 *g* wasserfreie Glukose mit 10 *g* geschmolzenen Natriumazetats in 100 *cm*³ Essigsäureanhydrid auf dem Wasserbade. Zu Anfang muß gut umgeschüttelt werden, bis alles gelöst ist. Dann erwärmt man noch weiter auf dem Wasserbade etwa 1½ Stunden, vertreibt die

[1]) *Emil Fischer,* Notiz über die Azetohalogenglukosen und die p-Bromphenylosazone von Maltose und Melobiose. Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. **44**. S. 1903 (1911).

[2]) *Wilhelm Koenigs* und *Eduard Knorr*, Über einige Derivate des Traubenzuckers und der Galaktose. Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. **34**. S. 961 (1901).

[3]) *Wilhelm Koenigs* und *Eduard Knorr,* Über einige Derivate des Traubenzuckers und der Galaktose. Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. **34**. S. 974 (1901).

Hauptmenge der gebildeten Essigsäure durch Eindampfen unter vermindertem Druck und gießt das Reaktionsprodukt in viel Wasser, welches oft erneuert wird. Das Azetylierungsprodukt wird bald fest und wird nach scharfem Absaugen aus Alkohol umkristallisiert. Die Ausbeute ist gewöhnlich etwas größer als die des angewandten Traubenzuckers. Bei der Azetylierung ist es oft nicht nötig, das Reaktionsprodukt längere Zeit auf dem Wasserbade zu erhitzen. Sobald der Zucker vollständig in Lösung geht, ist die Azetylierung in der Hauptsache ebenfalls beendet.

Darstellung von β-Glukosepentaazetat aus β-Glukose durch Azetylierung in der Kälte in Gegenwart von Pyridin.[1])

1·8 *g* fein gepulverte β-Glukose werden in ein eiskaltes Gemisch von 7 *g* Essigsäureanhydrid und 10 *g* trockenem Pyridin eingetragen. Die Mischung wird dauernd gekühlt, bis bei öfterem Umschütteln völlige Lösung eingetreten ist, und bleibt dann noch zwei Tage bei Zimmertemperatur stehen. Beim Eingießen in etwa 100 *g* eines Gemisches aus Wasser und Eis scheidet sich ein sofort erstarrender Niederschlag. Derselbe beträgt 3·5 *g*. Durch Umkristallisieren aus 40 cm^3 95⁰/₀igen Alkohol werden 2·9 *g* reines β-Glukosepentaazetat vom Schmelzpunkt 130—131⁰ gewonnen.

Darstellung von β-Glukose.[2])

12 *g* reine α-Glukose werden in 30 *g* trockenem Pyridin in der Siedehitze gelöst und nach völliger Lösung noch 10 Minuten gekocht, dann auf der Maschine 32 Stunden geschüttelt. Nach weiterem 14stündigen Stehen werden die ausgeschiedenen Kristalle abgesaugt, mit etwas Pyridin, dann mit Alkohol und Äther gewaschen. Der Pyridingeruch verschwindet erst, als nach mehreren Tagen Gewichtskonstanz eintritt. Der Schmelzpunkt liegt nicht ganz scharf bei 148—150⁰. Das Drehungsvermögen des Produktes zeigt folgende Zusammenstellung:

1·1385 *g* zu 25 cm^3 in Wasser gelöst gab bei etwa 19⁰ im 2 *dm*-Rohre folgende Drehungen:

Nach Aufgeben des Wassers	α	[α]D
8 Minuten	+ 2·12⁰	+ 23·28⁰
18 „	+ 2·54⁰	+ 27·89⁰
28 „	+ 2·79⁰	+ 30·63⁰
38 „	+ 3·14⁰	+ 34·48⁰
23 Stunden konstant . .	+ 4·80⁰	+ 52·70⁰

Durch Extrapolation aus den ersten Bestimmungen, welche allerdings nur zu annähernd genau bestimmten Zeiten erfolgten, ergibt sich die Anfangsdrehung zu etwa + 20·7⁰.

[1]) *Robert Behrend,* Über Glukose sowie deren Phenylhydrazone und Oxime. *Liebigs* Annalen. Bd. 353. S. 107 (1907).

[2]) *Robert Behrend,* Über Glukose sowie deren Phenylhydrazone und Oxime. *Liebigs* Annalen. Bd. 353. S. 107 (1907).

3. Darstellung von β-Azetobromglukose aus β-Pentazetylglukose mit Eisessig-Bromwasserstoff.[1])

100 *g* gepulverte β-Pentaazetylglukose werden mit 130 cm^3 Eisessig übergossen, dann mit 200 *g* (130 cm^3) gesättigtem Eisessig-Bromwaserstoff durch Schütteln gelöst und vom Moment der Lösung ab 2 Stunden bei Zimmertemperatur (16—20°) aufbewahrt. Die klare Lösung wird nun mit 400 cm^3 gekühltem Chloroform vermischt und diese Flüssigkeit sofort unter Umrühren in 1½ *l* Wasser und Eis eingegossen. Nach tüchtigem Durchschütteln wird die Chloroformschicht abgehoben und die wässerige Lösung nochmals mit 100 cm^3 Chloroform ausgeschüttelt. Man wäscht die vereinigten Chloroformauszüge mit 750 cm^3 Wasser und extrahiert, um Verluste zu vermeiden, die Waschwässer nochmals mit 50 cm^3 Chloroform. Schließlich wird die gesamte Chloroformlösung 5—10 Minuten mit Chlorkalzium geschüttelt, filtriert, unter vermindertem Druck stark konzentriert und durch allmählichen Zusatz von Petroläther die Azetobromglukose kristallisiert abgeschieden. Ausbeute an exsikkatortrockener und schon recht reiner Substanz etwa 88 *g*. Das Präparat ist für die allermeisten Verwendungen rein genug. Zur völligen Reinigung kann man es auch ohne große Verluste in Amylalkohol von 60—70° lösen und durch starke Abkühlung wieder ausscheiden. Es ist nicht nötig, für die Darstellung ganz reine β-Pentaazetylglukose zu verwenden; eine Beimengung der isomeren α-Verbindung schadet nichts, da sie ja dasselbe Endprodukt liefert.

4. Darstellung von Azetobromzellobiose.[2])

50 *g* fein gepulverte Oktazetylzellobiose vom Schmelzpunkt 228° werden mit 250 cm^3 Eisessig, der mit Bromwasserstoff bei 0° gesättigt ist, bei gewöhnlicher Temperatur geschüttelt, bis nach etwa 15—20 Minuten Lösung eingetreten ist. Man läßt dann noch 1½ Stunden bei Zimmertemperatur stehen und gießt nun die schwach gelbe Flüssigkeit in etwa 1½ *l* Eiswasser, wobei ein starker Niederschlag entsteht. Da dieser schlecht zu filtrieren ist, so ist es bequemer, dem Gemisch sofort 100 cm^3 Chloroform zuzufügen und durch Umschütteln den Niederschlag zu lösen. Die Chloroformlösung wird abgehoben, mit Wasser durchgeschüttelt, mit Chlorkalzium getrocknet und mit Pretoläther bis zur bleibenden Trübung versetzt. Bald beginnt die Kristallisation der Azetobromzellobiose, und durch weiteren Zusatz von Petroläther gelingt es, die Hauptmenge abzuscheiden. Die abgesaugte und gepreßte Masse wird in 250—300 cm^3 Essigäther warm gelöst. Fügt man dann das gleiche Volumen Petroläther zu, so scheiden sich bald dünne, biegsame Nadeln aus. Die Ausbeute an diesem

[1]) *Emil Fischer*, Notiz über die Azetohalogen-glukosen und die p-Bromphenylosazone von Maltose und Melibiose. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. Bd. **44**. S. 1903 (1911).

[2]) *Emil Fischer* und *Géza Zemplén*, Einige Derivate der Zellobiose. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. Bd. **43**. S. 2537 (1910).

reinen Produkt betrug 32 *g* oder 62% der Theorie. Die Mutterlauge gibt noch einige Gramm weniger reinen Materials.

Zusammenstellung der wichtigeren zur Darstellung der Glukoside verwendbaren Azetohalogenverbindungen der Zucker.

Name der Azetohalogenverbindung	Schmelzpunkt	[illegible]
β-l-Azetochlorarabinose	149—152°	$[\alpha]_D^{15} = -224·15°$ (Chloroform)
β-l-Azetobromarabinose	137°	$[\alpha]_D^{15} = -283·30°$ (Chloroform)
β-Azetochlor-d-glukose	73—74°	$[\alpha]_D^{20} = +165·76$ (Chloroform)
β-Azetobrom-d-glukose	88—89°	$[\alpha]_D^{20} = +199$ (Chloroform)
β-Azetochlor-d-galaktose	Aus Ligroin Schmelzp. 74°, aus Äther Schmelzp. 82°	$[\alpha]_D^{20} = +212·25°$ (Chloroform)
β-Azetobrom-d-galaktose	82—83°	$[\alpha]_D^{20} = +236·4$ (Chloroform)
β-Azetochlormaltose	66—68°	$[\alpha]_D^{20} = +176°$ (Benzol)
β-Azetobrommaltose	84°	
β-Azetochlorlaktose	57—59°	$[\alpha]_D^{20} = +76 2°$ (Benzol)
β-Azetobromlaktose	134°	$[\alpha]_D^{20} = +108·17°$ (Chloroform)
β-Azetobromzellobiose	gegen 180°	$[\alpha]_D^{20} = +96·5°$ (Chloroform)
β-Azetojodzellobiose	160—170°	$[\alpha]_D^{20} = +125·6°$ (Chloroform)
Bromtriazetylglukosaminhydrobromid	149—150°	$[\alpha]_D^{20} = +135·9°$ ➤ $+148·4°$ in trockenem Azeton

B. II. Darstellung von β-Glykol-d-glukosid.[1]

20 *g* frisch destilliertes Glykol und 6 *g* reine Azetobromglukose werden unter Zusatz von 7·2 *g* frisch gefälltem und über Phosphorpentoxyd getrocknetem Silberkarbonat in eine Stöpselflasche geschüttelt. Sehr bald tritt lebhafte Entwicklung von Kohlensäure ein, so daß die Flasche in der ersten Stunde häufig geöffnet werden muß. Nachdem die Hauptreaktion vorüber ist, wird noch 1—2 Stunden auf der Maschine geschüttelt und nun abge-

[1]) *Emil Fischer* und *Hans Fischer*, Über einige Derivate des Milchzuckers und der Maltose und über zwei neue Glukoside. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. Bd. 43. S. 2528 (1910).

saugt. Der Rückstand enthält neben den Silberverbindungen den größten Teil des Azetylkörpers. Dieser wird mit heißem Alkohol ausgelaugt. Verdampft man die alkoholischen Auszüge unter vermindertem Druck, so bleibt der Azetylkörper kristallinisch zurück und wird durch mehrmaliges Umlösen aus heißem Wasser gereinigt. Eine weitere, aber ziemlich geringe Menge des Azetylkörpers kann man durch wiederholtes Ausäthern der ersten Glykolmutterlauge gewinnen. Die Gesamausbeute an reinem Azetylkörper beträgt ungefähr 45% der Theorie. Nebenher entsteht ein nicht kristallisierender Sirup, der auch ein Glukosidazetat, vielleicht stereoisomer mit dem ersten Azetylkörper, zu sein scheint. Die Azetylverbindung bildet farblose, ziemlich derbe Prismen, die zwischen 101—103° (korr.) schmelzen und in wässeriger Lösung ein Drehungsvermögen von $[\alpha]_D^{16} = -26.23°$ zeigen. 5 *g* der Azetylverbindung werden mit 20 *g* kristallisiertem Barythydrat in 300 *cm*³ Wasser gelöst und 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt. Man leitet dann Kohlensäure bis zur neutralen Reaktion ein, filtriert heiß und hält nach dem Abkühlen den Rest des Baryts quantitativ mit Schwefelsäure. Diese Entfernung des Baryts in zwei Phasen ist der direkten Fällung mit Schwefelsäure vorzuziehen, weil die Niederschläge leichter zu filtrieren sind. Wird die zentrifugierte und klar filtrierte Lösung unter 15—20 *mm* Druck zur Trockne verdampft, so bleibt das Glukosid als farbloser Sirup zurück. Man löst ihn in nicht zuviel absolutem Alkohol, versetzt mit Essigäther bis zur beginnenden Trübung und läßt das nur locker verschlossene Gefäß stehen. Nach Wochen pflegt sich das Glukosid in ziemlich derben Kristallen abzuscheiden. Ist man einmal im Besitz von Kristallen, so kann man in der obigen, alkoholisch-essigätherischen Lösung die Kristallisation schon im Verlauf von einigen Stunden herbeiführen. Auch aus der konzentrierten, alkoholischen Lösung des Rohproduktes fällt beim Impfen das Glukosid kristallinisch aus. Aus 3 *g* Azetylverbindung werden 1.5 *g* kristallisiertes Glukosid erhalten. Zur völligen Reinigung löst man in wenig Wasser, läßt im Vakuumexsikkator zum Sirup verdunsten, nimmt dann mit wenig Alkohol auf und impft. Nach kurzer Zeit erstarrt die ganze Flüssigkeit zu einem Kristallbrei. Das Präparat schmilzt ziemlich scharf bei 137—138° (korr.) und zeigt ein Drehungsvermögen $[\alpha]_D^{16} = -30.20°$ in wässeriger Lösung.

C. Darstellung von Gluko-vanillin (Vanillin-d-glukosid).[1]

Eine Lösung von 10 *g* Azetobromglukose in 75 *cm*³ gewöhnlichem Äther wird mit einer Lösung von 7.4 *g* Vanillin (2 Mol.) in der berechneten Menge (48.7 *cm*³) n-Natronlauge bei Zimmertemperatur auf der Maschine geschüttelt. Schon nach wenigen Minuten beginnt die ursprünglich gelbe Lösung des Natrium-Vanillins sich zu bräunen; nach dreitägigem

[1]) *Emil Fischer* und *Karl Raske*, Synthese einiger Glukoside. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. Bd. **42**. S. 1474 (1909).

Schütteln ist die wässerige Schicht schwarzbraun geworden und von Kristallen durchsetzt, während die ätherische Schicht hellbraun aussieht. Da die Bromverbindung aus der ätherischen Schicht bis auf einen geringen Rest verschwunden ist, so wird jetzt die ätherische Schicht abgehoben und die in der wässerigen Schicht suspendierten Kristalle von Tetraazetyl-glukovanillin abgesaugt. Ihre Menge beträgt 6·3 *g*. Ein kleiner Teil der Azetylverbindung befindet sich in dem Äther. Zu seiner Gewinnung wird die hellbraune ätherische Lösung bis zur Entfärbung mit verdünnter Natronlauge geschüttelt. Dadurch wird der größte Teil der im Äther gelösten Stoffe entfernt, und beim Verdampfen des Äthers bleiben noch 0·6 *g* Azetyl-glukovanillin in fast farblosen Kristallen zurück. Die Gesamtausbeute ist 59% der Theorie auf Azetobromglukose berechnet. Die Reinigung gelingt am besten durch Umkristallisieren aus verdünntem Alkohol (70 cm^3 Alkohol und 120 cm^3 Wasser) unter Zusatz von etwas Tierkohle. Die Verbindung kristallisiert in farblosen, glänzenden, manchmal 1 cm langen dünnen Prismen, vom Schmelzpunkt 143—144° (korr.).

Für die Umwandlung in das freie Glukovanillin werden 5·4 *g* der Tetraazetylverbindung fein gepulvert, mit einer klaren Lösung von 20 *g* kristallisiertem Barythydrat in 300 cm^3 Wasser übergossen und auf der Maschine geschüttelt. Schon nach 2 Stunden ist der größte Teil in Lösung gegangen. Zur Vervollständigung der Reaktion wird das Schütteln 20 Stunden fortgesetzt. Nachdem der überschüssige Baryt durch Kohlensäure gefällt und abgesaugt ist, wird das Filtrat unter vermindertem Druck eingedampft. Wegen der geringen Löslichkeit in Alkohol läßt sich das Glukosid durch Auskochen mit Alkohol nur unvollkommen von dem Baryumazetat trennen. Es erweist sich als vorteilhafter, den Verdampfungsrückstand in wenig heißem Wasser (zirka 10 cm^3) zu lösen und die Lösung in heißen Alkohol (300 cm^3) zu gießen. Das ausgeschiedene Baryumazetat wird heiß abgesaugt, nochmals mit Alkohol ausgekocht und die vereinigten alkoholischen Lösungen unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft. Die Reinigung gelingt am besten durch Umkristallisieren aus heißem, trockenem Methylalkohol. Das Präparat bildet sternförmig verwachsene Nadeln vom Schmelzpunkt 188—189° (korr.). $[\alpha]_D^{20} = -87·13°$ (0·1042 *g* Substanz, Gesamtgewicht 9·6679 *g*; spez. Gew.: 1·001).

D. Darstellung von β-Methylglukosid mit Hilfe von Emulsin.[1]

10 *g* Glukose werden in 1 *l* gewöhnlichem Methylalkohol gelöst und nach Zusatz von 2 *g* Emulsin geschüttelt. Das Drehungsvermögen der Lösung beträgt beim Anfang des Versuches in 2 *dm*-Rohr + 1° 10′ und nach 25 Tagen ist die konstante Enddrehung von — 16′ erreicht. Aus diesen

[1]) *Em. Bourquelot* u. *M. Bridel*, De l'action hydrolysante et de l'action synthétisante de l'émulsine dans l'alcool méthylique. Obtention du méthylglucoside β. Journal de Pharmacie et de chimie [7]. T. **6**. p. 56 (1912). Synthèse de glucosides d'alcools à l'aide de l'émulsine IV. Méthylglucoside β, éthylglucoside β, propylglucoside β. Journal de Pharmacie et de chimie [7]. T. **6**. p. 97 (1912).

Daten kann man schließen, das 81% der vorhandenen Glukose mit dem Methylalkohol zu β-Methylglukosid vereinigt wurde. Das Filtrat wird unter vermindertem Druck völlig verdampft und der Rückstand mit Essigäther ausgekocht. Nach einiger Zeit beginnt eine kräftige Kristallisation des Glukosids aus der essigätherischen Lösung.

Darstellung des β-Äthylgalaktosids mit Hilfe von Emulsin.[1])

Man läßt 4·75 *g* Emulsin auf 950 cm^3 einer 1%igen Lösung von Galaktose in 79—80%igem Alkohol einwirken. Nach 83tägigem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur wird das Reaktionsprodukt noch 6 Tage bei 40° stehen gelassen, wobei die Anfangsdrehung um 40′ sinkt. 850 cm^3 des Filtrats werden unter vermindertem Druck eingedampft und der Rückstand mit 250° wasserfreien Essigäther am Rückflußkühler ausgekocht. Die Lösung scheidet nach 24 Stunden 1·50 *g* des Glukosids aus. Die Mutterlauge wird auf etwa 60 cm^3 eingedampft und 45 Tage stehen gelassen, wobei noch 1·2 *g* des Glukosids erhalten werden.

Darstellung der natürlichen Glukoside.

Eine allgemein anwendbare Darstellung der natürlichen Glukoside ist nicht zu geben, weil die Isolierung derselben je nach dem gegebenen Fall wechselt. Die besten Darstellungsmethoden sind immerhin diejenigen, wobei die hydrolytische Spaltung der glykosidspaltenden und oxydativen Enzyme vollkommen ausgeschaltet werden. Zu diesem Zwecke empfiehlt sich am besten die Behandlung des ganz frischen und möglichst unzerkleinerten Materials mit kochendem Alkohol. Diese Behandlung und die dazu nötige Apparatur ist in dem Kapitel über den Nachweis der Glukoside auf biochemischem Wege beschrieben.

Um eine Übersicht über die verschiedenen anwendbaren Methoden zu gewinnen, folgen hier einige charakteristische Darstellungen der verschiedenen Glukoside.

Darstellung des Bakankosins.[2])

Das Glukosid kann aus den reifen Früchten von Strychnos Vacacoua Baill. nach zwei verschiedenen Verfahren gewonnen werden. In beiden Fällen geht man aus den trockenen Samen, die befreit von ihrer Schale, halb fein gemahlen und mit Äther erschöpft sind, aus.

I. Das entfettete Pulver wird am Rückflußkühler mit Essigäther (1000 cm^3 für 100 *g* Pulver) 30 Minuten lang gekocht. Man filtriert heiß

---

[1]) *Em. Bourquelot* et *H. Hérissey*, Synthese de galactocides d'alcools à l'aide de l'emulsine. Ethylgalaktoside. Journal de Pharmacie et de chimie [7]. T. **6**. p. 385 (1912).

[2]) *E. Bourquelot* und *H. Hérissey*, Über das Bakankosin, ein durch Emulsin spaltbares Glykosid aus den Samen von Strychnos Vacacoua Baill. Archiv d. Pharmazie. Bd. **247**. S. 59 (1909).

und läßt das Filtrat 24 Stunden stehen, wobei ein leichter farbloser kristallinischer Niederschlag ausgeschieden wird.

Die Flüssigkeit wird von den Kristallen abgegossen und von neuem mit dem extrahierten Pulver in Berührung gebracht; man läßt sie noch 30 Minuten lang kochen und filtriert dann heiß in denselben Kolben. Diese Operation wird noch zweimal nach je 24 Stunden Zwischenzeit wiederholt. Endlich wird der Niederschlag abgesaugt und mit siedendem Alkohol (20 *cm*³ für 100 *g* ursprüngliches Pulver) am Rückflußkühler aufgenommen. Das heiße Filtrat scheidet nach 3—4 Tagen eine kräftige Kristallisation des sehr reinen Glukosids. Die Ausbeute beträgt 1 *g* auf 100 *g* Samenpulver. Zur völligen Reinigung wird dreimal aus heißem Alkohol und endlich aus heißem Wasser (4 *cm*³ auf 1 *g*) umkristallisiert.

II. Man extrahiert das entfettete Pulver mit heißem 95%igen Alkohol am Rückflußkühler. Die alkoholische Lösung wird bei Gegenwart von etwas Kalziumkarbonat unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird mit Wasser aufgenommen und das Filtrat mit etwas Oberhefe versetzt, um den Rohrzucker zu vergären. Nach 24 Stunden wird das Fitrat bis zum Sirup eingedampft. Das Bakankosin kristallisiert dann in großen, gefärbten Kristallen aus, die zur weiteren Reinigung zunächst aus Wasser (4 *cm*³ für 1 *g*) unter Zusatz von Tierkohle, dann aus 95%igem Alkohol (1 *cm*³ für 1 *g*) und schließlich von neuem aus Wasser umkristallisiert werden.

Darstellung von Baptin.[1])

Das alkalische Filtrat des Baptisins wird mit Salzsäure neutralisiert und mit einer genügenden Menge Tannin ausgefällt. Der hierbei abgeschiedene, harzartige, braune Niederschlag wird mit Wasser ausgewaschen, mit Zinkoxyd gemischt und mit Wasser extrahiert, wobei das Glukosid in Lösung geht. Die braungefärbte Flüssigkeit wird zur Reinigung mit Bleizuckerlösung ausgefällt und das Filtrat durch Schwefelwasserstoff entbleit. Das Glykosid kann jetzt aus der nahezu farblosen Lösung mit Bleiessig und Ammoniak abgeschieden werden. Der Niederschlag wird nach dem Auswaschen mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Fitrat unter vermindertem Druck eingedampft. Das Rohprodukt wird dann aus verdünntem Alkohol mehrmals umkristallisiert.

Darstellung von Baptisin.[2])

Die Baptisinwurzeln (aus Baptisia tinctoria) werden zerschnitten, im Dampfbade getrocknet und nachher zerstoßen. 4·1 *kg* der trockenen zerstoßenen Wurzel werden mit 60%igem heißen Alkohol mehrmals extrahiert

---

[1]) *K. Gorter*, Über die Bestandteile der Wurzel von Baptisia tinctoria. Archiv d. Pharmazie. Bd. 235. S. 303 (1897).

[2]) *K. Gorter*, Über die Bestandteile der Wurzel von Baptisia tinctoria. Archiv d. Pharmazie. Bd. 235. S. 303 (1897).

der Weingeist abdestilliert, der rückständige, dunkelbraungefärbte Sirup mit Soda alkalisch gemacht und diese Lösung mit Chloroform geschüttelt. Es scheidet sich nach kurzem Stehen eine große Menge einer weißen, kristallinischen Substanz aus, die abgesaugt, scharf gepreßt, mit viel Wasser zerrieben, wieder abgesaugt und gepreßt wird. Die getrocknete Masse (250 *g*) wird mehrmals aus verdünntem Alkohol umkristallisiert. Man erhält so in einer Ausbeute von 6% (auf die Wurzel berechnet) an Baptisin.

Darstellung des Zerberins.[1])

1. Die Samenkerne werden auf einem hölzernen Block mit Hilfe eines Hackmessers zu einem groben Pulver zerkleinert und dieses, in Quantitäten von etwa 2 *kg*, in starken leinenen Säcken zwischen den gelinde erwärmten Platten einer starken Presse vom größten Teile (ca. 44%) des Fettes befreit.

Der ausgepreßte Samenkuchen, der dann noch gut 30% Fett enthält, wird von neuem zerkleinert, mit 80%igem Alkohol einige Stunden am Rückflußkühler gekocht, die Flüssigkeit durch Kolieren und Auspressen gewonnen und die ganze Operation noch zweimal wiederholt. Nachdem ein großer Teil der vereinigten alkoholischen Auszüge eingedampft ist, wird die zurückgebliebene Flüssigkeit mit Wasser vermischt. Beim Abkühlen setzt sich ein großer Teil der noch gelösten Fette an der Oberfläche ab. Nach Entfernung des Fettes wird die Flüssigkeit mit großen Mengen Petroläther übergossen, dann und wann umgeschüttelt und ruhig stehen gelassen. Nach einiger Zeit setzt sich auf dem Boden der Flaschen eine dicke schwarzgefärbte Ausscheidung ab, die aus unreinen Kristallen des Zerberins besteht. Die Masse wird mit Petroläther gewaschen, in Alkohol gelöst, mit Tierkohle entfärbt und die aus dem Filtrate ausgeschiedenen Kristalle mehrmals aus absolutem Alkohol umkristallisiert und mit Äther abgewaschen.

2. Die von Fett teilweise wie oben befreiten Samenkerne werden vor der Alkoholbehandlung zunächst dreimal mit Wasser ausgekocht.

Um das mehrmal aus Alkohol umkristallisierte Zerebrin vollkommen rein zu erhalten, ist immer noch ein Ausschütteln mit Äther empfehlenswert. Ausbeute 0·08—0·16% der Samen.

Darstellung von Koniferin.[2])

Zur Zeit der Holzbildung, im Frühjahr und im Anfang des Sommers, werden frisch gefällte Stämme von Nadelhölzern, z. B. von Pices excelsa und Abies pectinata, von Prunus Strobus und Cembra, von Larix europaea usw. in Stücke zersägt und die einzelnen Teile von der Rinde be-

[1]) *P. C. Plugge*, Beitrag zur Kenntnis des Zerberins. Archiv d. Pharmazie. Bd. **231**. S. 15 (1893).

[2]) *Ferd. Tiemann* und *Wilh. Haarmann*, Über das Koniferin und seine Umwandlung in das aromatische Prinzip der Vanille. Ber. d. Deutschen Chem. Gesellsch. Bd. **7**. S. 609 (1874).

freit. Darauf sammelt man den Cambialsaft durch Abschaben vermittelst eines scharfen Instrumentes, praktisch eines Glasscherbens, in einem untergestellten Gefäße, befreit den gewonnenen Saft durch Aufkochen und Filtrieren von dem darin gelösten Eiweiß und dampft das Filtrat auf etwa ein Fünftel seines ursprünglichen Volums ein. Die aus der konzentrierten Flüssigkeit nach kurzer Zeit anschießenden, noch braun gefärbten Kristalle werden durch Abpressen von dem anhaftenden, Pinit enthaltenden Sirup möglichst getrennt und durch wiederholtes Umkristallisieren gereinigt. Anwendung von Tierkohle bei der letzten Operation beschleunigt die Entfärbung.

Die verunreinigenden Substanzen lassen sich zum größeren Teil auch dadurch fortschaffen, daß man die braungefärbten heißen Koniferinlösungen mit geringen Mengen von Bleiazetat und Ammoniak versetzt; harzartige Körper und färbende Materien werden dadurch gefällt, während Koniferin in Lösung bleibt. Etwa überschüssig hinzugesetztes Bleiazetat kann durch Einleiten von Kohlensäure als unlösliches Bleikarbonat leicht entfernt werden.

Darstellung von Gaultherin.[1])

Man extrahiert die Rinde von Betula lenta oder Gaultheria procumbens mit einer Lösung von Bleiazetat (15% vom Gewichte des Rohmaterials) in starkem Alkohol. Auf diese Weise wird das Ferment, welches die Spaltung des Glykosids bewirkt, von vornherein unwirksam gemacht. Die gewonnene grünliche Flüssigkeit wird mit Schwefelwasserstoff behandelt und das Filtrat unter vermindertem Druck eingedampft. Der zurückbleibende braune Sirup wird mit etwas absolutem Alkohol aufgenommen und das Filtrat mit mehrfachen Volumen Äther versetzt. Es entsteht eine reichliche Fällung, die zuerst weiß von Farbe, zu einer gelblichen, klebrigen Masse zusammenballt. Sie wird in Alkohol gelöst und der freiwilligen Verdampfung überlassen. Die dicke Flüssigkeit durchsetzt sich nach und nach mit sternförmigen Gruppen von kurzen, prismatischen Kristallen. Durch zwei- oder dreimal wiederholtes Umkristallisieren unter Behandlung mit Tierkohle gewinnt man schließlich ein farbloses Produkt.

Darstellung von Glyzyphyllin.[2])

Der wässerige Extrakt der Blumen, Samen und Blätter von Smilax Glycyphylla wird mit Alkohol von den Eiweißsubstanzen befreit, aus dem Filtrat der Alkohol abdestilliert und die beim Verdampfen hinterbleibende Masse zwei- oder dreimal mit Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten ätherischen Auszüge werden verdampft und der gelbe kristallinische Rückstand mit Wasser gelöst. Man fällt jetzt die fremden Stoffe mit Bleiazetat und extrahiert aus dem Filtrat das Glukosid mit Äther.[2])

[1]) *Aug. Schneegans* und *J. E. Gerock*, Über Gaultherin, ein neues Glykosid aus Betula lenta L. Archiv d. Pharmazie. Bd. 232. S. 438 (1894).

[2]) *C. R. A. Wright* and *E. H. Rennie*, Chemical News. Vol. 43. p. 142, [illegible] (1881). Journal of the Chemical Society. Vol. 39. p. 237 (1881).

Darstellung von Gratiolin.[1])

Das gepulverte Kraut von Gratiola officinalis (Gottesgnadenkraut) wird mit dem gleichen Gewichte 50%igen Alkohols und mit frischgefälltem, zur dicken Paste abgesaugtem Bleihydroxyd gut durchgearbeitet. Durch letzteres wird ein im Kraute reichlich vorhandener gerbstoffähnlicher Körper in eine gelbe, in Wasser und Alkohol völlig unlösliche Verbindung überführt. Das feuchte Gemenge kommt hierauf in einen Perkolator, worin es mit 50%igem Alkohol gut durchtränkt und mit demselben überschüttet 24 Stunden stehen bleibt. Das hierauf Tropfen für Tropfen abgelassene Perkolat ist von brauner Farbe und intensiv bitterem Geschmack. Die Extraktion wird bis zur völligen Entbitterung fortgesetzt, was in verhältnismäßig kurzer Zeit zu erreichen ist. Von den Perkolaten wird der Alkohol abdestilliert und der wässerige Rückstand zur Abscheidung des Gratiolins 12 Stunden sich selbst überlassen. Das alsdann als grauer Bodensatz abgeschiedene Glukosid wird abgesaugt, mit wenig Wasser gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. Hierauf löst man es in möglichst wenig absolutem Alkohol, entfärbt mit Tierkohle und fällt aus dem Filtrate das Glukosid durch Äther. Zur völligen Reinigung wird drei- bis viermal aus 50% Alkohol umkristallisiert.

Darstellung von Hederin.[2])

Die Blätter der Epheupflanze (Hedera helix) werden mit heißem Wasser vollständig erschöpft und nach dem Auspressen mit warmem 90%igen Alkohol extrahiert. Der alkoholische Auszug wird wiederholt mit Tierkohle behandelt und dann der Alkohol abdestilliert. Der Rückstand wird mit wenig Alkohol wieder in Lösung gebracht und siedend heiß unter Umrühren bis zur reichlichen Kristallisation eingedampft. Der Kristallbrei wird heiß abgesaugt und mit wenig kaltem Alkohol nachgewaschen. Wird diese Reinigung nochmals wiederholt und dann mit kaltem Azeton gut ausgewaschen, so ist das Präparat rein.

Darstellung von Helleborein.[3])

Die frischen Wurzeln von Helleborus niger werden zunächst mit Äther ausgezogen, um das Helleborin zu entfernen, und dann ein wässeriger Extrakt bereitet. Derselbe wird in der Wärme mit Weingeist behandelt. Auf 500 *g* Extrakt nimmt man $2^1/_2$ *l* Weingeist. Dabei bleiben zähe klebrige Verunreinigungen zurück. Die trübe, abgegossene Flüssigkeit wird zur Klärung einen Tag beiseite gestellt und das Filtrat eingedampft, der Rückstand in Wasser aufgenommen und mit basischem Bleiazetat gefällt. Der

---

[1]) *Friedrich Retzlaff*, Über Herba Gratiolae. Arch. d. Pharm. Bd. **240**. S. 562 (1902).

[2]) *Hermann Block*, Die Bestandteile der Epheupflanze (Hedera helix). Archiv d. Pharmazie. Bd. **226**. S. 965 (1888).

[3]) *K. Thaeter*, Beiträge zur forensischen Chemie und Wertbestimmung scharf wirkender Drogen. II. Über die Glukoside der Wurzel von Helleborus niger. Helleborein und Helleborin. Archiv der Pharmazie. Bd. **235**. S. 414 (1897).

Niederschlag wird abgesaugt, im Filtrate das überschüssige Bleiazetat mit Natriumsulfat gefällt und zu der filtrierten Flüssigkeit solange Tanninlösung zugefügt, als noch ein Niederschlag entsteht. Ein Überschuß der Tanninlösung ist zu vermeiden, weil darin der Niederschlag wieder löslich ist. Verdünnte Lösungen werden dabei viel reichlicher gefällt als konzentrierte. Der Tanninniederschlag wird nach dem Absitzen oder Zentrifugieren durch Abgießen der Flüssigkeit gewonnen. Er wird in der Wärme mit Alkohol versetzt und mit gefälltem, gut ausgewaschenem Bleihydroxyd längere Zeit auf dem Wasserbade unter öfterem Umschütteln digeriert. Die Operation wird zweckmäßig unter Turbinieren ausgeführt. Nachdem die Umsetzung vollständig verlaufen ist, was dadurch erkannt wird, daß das Filtrat keine Eisenchloridreaktion mehr gibt, wird die Masse mit Alkohol ausgekocht, daß Filtrat konzentriert und in viel Äther (auf 50 cm^3 der konzentrierten Lösung 1 *l* Äther) in langsamem Strahle unter Umrühren eingegossen. Das Helleborein scheidet sich nebst einigen Verunreinigungen zuerst in weißen Flocken ab, ballt sich aber rasch zu einer gelben Masse zusammen, die sich an den Wandungen des Gefäßes ansetzt. Nach der Klärung wird die ätherische Flüssigkeit abgegossen und der Niederschlag in absolutem Alkohol gelöst, die Flüssigkeit konzentriert und wieder in eine reichliche Quantität Äther eingetragen, wobei Ausscheidung weißer Flocken von Helleborein, die sich zusammenballen, erfolgt. Sie werden rasch abgesaugt, wieder in Alkohol gelöst und die Flüssigkeit soweit konzentriert, bis sich beim Erkalten eine Trübung zeigt. Beim Stehen scheiden sich Kristallkrusten des Helleboreins aus.

Darstellung von Helleborin.[1])

Die frischen Wurzeln von Helleborus niger werden mit Äther extrahiert, wobei etwa 5% in Lösung geht. Der Ätherrückstand ist eine dünnflüssige, grünlichbraune Masse, die neben viel Fett, Harz und Farbstoffen das Helleborin bereits in ausgeschiedenen Kristallkomplexen enthält. Zuerst wird die Masse zur Entfernung der Fette mit Petroläther behandelt, hierauf wird der stark braungefärbte Rückstand mit kaltem Azeton verrieben, wobei Harze und Farbstoffe in Lösung gehen, während das Helleborin unlöslich zurückbleibt. Das Rohprodukt wird aus einem Gemisch von Äther und Alkohol umkristallisiert. Die Ausbeute ist gering, weil Helleborin in den Wurzeln nur in kleinen Mengen vorhanden ist.

Darstellung von Hesperidin.[2])

Das Glukosid läßt sich am leichtesten und in größter Menge aus den offizinellen, getrockneten, unreifen Pomeranzen (Fructus aurantii

---

[1]) *K. Thaeter*, Beiträge zur forensischen Chemie und Wertbestimmung stark wirkender Drogen. II. Über die Glukoside der Wurzel von Helleborus niger: Helleborein und Helleborin. Archiv der Pharmazie. Bd. 235. S. 414 (1897).

[2]) *Ferd. Tiemann* und *W. Will*, Über das Hesperidin, ein Glukosid der Aurantiaceen und seine Spaltungsprodukte. Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 14. S. 948 (1881).

immaturi) gewinnen. Die gröblich zerstoßenen Pomeranzen werden solange mit großen Mengen Wasser ausgelaugt, als in den wässerigen Auszügen durch Bleiazetat noch eine Fällung hervorgerufen wird. Man erschöpft den Rückstand darauf mit einem Gemisch aus gleichen Volumen Alkohol und Wasser, dem man 1—2% seines Gewichtes an Natriumhydroxyd hinzugefügt hat. Die Extraktion ist beendigt, wenn die verdünnte alkoholische Natronlauge sich nicht mehr färbt. Man kann sie beschleunigen, indem man die stark aufgequollene Masse wiederholt durch scharfes Abpressen von der aufgesogenen Lösung befreit. Aus den alkoholischen Auszügen wird durch verdünnte Mineralsäuren rohes Hesperidin gefällt. Die letzteren Auszüge liefern ein reineres, weniger gefärbtes Produkt als die ersteren. Behufs weiterer Reinigung wird das rohe Hesperidin mit nicht zu kleinen Mengen 90%igen Alkohols ausgekocht, wobei färbende Verunreinigungen neben geringen Mengen von Hesperidin in Lösung gehen. Die so behandelte, nunmehr fast farblose Masse wird in stark verdünnter Alkalilauge, der man eine kleine Menge Alkohol hinzugesetzt hat, bei gewöhnlicher Temperatur gelöst und aus dieser Lösung durch Einleiten eines sehr langsamen Stromes von Kohlensäure wieder gefällt. Der gut ausgewaschene Niederschlag besteht aus reinem Hesperidin.

Darstellung von Iridin.[1])

Der mit Alkohol bereitete Auszug aus 10 *kg* gepulverter Veilchenwurzeln (Iris florentina) wird unter Umrühren mit 2 *l* lauwarmen Wassers und 1 *l* eines Gemenges aus Azeton und Chloroform von 0·950 Vol. Gew. versetzt. Beim ruhigen Stehen trennt sich die Flüssigkeit in zwei Schichten, eine untere wässerige, in welcher Glukose, organische Säuren, färbende Substanzen usw. gelöst sind, und eine obere azeton- und chloroformhaltige, welche den größeren Teil der in Wasser nicht oder schwer löslichen Bestandteile des alkoholischen Extraktes aufgenommen hat. Das durch Alkohol der Wurzel entzogene Glukosid schwimmt als amorphe weiße Masse in dem dunkel gefärbten Sirup. Man trennt die beiden Schichten durch Dekantieren, sammelt die weißen Flocken auf einem Filter, wäscht sie mit wenig heißem Wasser aus und trocknet bei 100°. Das erhaltene weiße Pulver wird behufs Entfernung anhaftender Verunreinigungen mit Äther und Ligroin gewaschen und durch Umkristallisieren aus siedendem verdünntem Alkohol (1 Vol. 90%igen Alkohols auf 2 Vol. Wasser) völlig gereinigt.

Darstellung von Isoamygdalin.[2])

Man löst 10 *g* Amygdalin in 150 *cm*³ einer wässerigen, $^{2}/_{100}$ Normal-Barythydratlösung. Nach ungefähr 12 Stunden kann man sicher sein, daß

---

[1]) *G. de Laire* und *Ferd. Tiemann*, Über Iridin, das Glukosid der Veilchenwurzel. Berichte der Deutsch. chem. Gesellsch. Bd. **26**. S. 2011 (1893).

[2]) *H. Hérissey*, Gewinnung von Prulaurasin durch Einwirkung eines löslichen Ferments auf Isoamygdalin. Archiv der Pharmazie. Bd. **245**. S. 638 (1907).

bei 25° das Amygdalin vollständig zu Isoamygdalin isomerisiert ist. Man leitet alsdann einen Strom von Kohlensäure in die Lösung, kocht dieselbe auf, filtriert und verdampft zur Trockene unter vermindertem Druck. Der Rückstand wird mit 60 cm^3 siedendem Alkohol von 80% aufgenommen. Das Filtrat beginnt nach einigen Stunden zu kristallisieren und liefert ein vollständig farbloses Produkt. Wenn sich nach Verlauf von mehreren Tagen keine weiteren Kristalle mehr abscheiden, saugt man dieselbe ab und dampft die Mutterlauge entsprechend ein. Dieselbe kann noch eine Menge von Kristallen liefern. Man trocknet das Produkt an der Luft bis zum konstanten Gewicht.

Darstellung von Mandelnitrilglukosid.[1])

10 *g* feingepulvertes Amygdalin werden mit 90 cm^3 einer Lösung übergossen, die aus 1 T. gut gewaschener und an der Luft völlig getrockneter Brauereihefe (Frohbergtypus) durch 20stündige Auslaugung mit 20 T. Wasser bei 35° bereitet war. Trocknet man die Hefe mit Alkohol und bei 35°, so enthält das Präparat kein Ferment, das aus Amygdalin Mandelnitrilglukosid zu bilden vermag.[2]) Um die sekundäre Wirkung von gärungserregenden Organismen zu verhindern, werden 0·8 *g* Toluol zugefügt. Beim Aufbewahren der Mischung im Brutofen bei 35° und öfterem Umschütteln erfolgt bald die Lösung des Amygdalins. Nach 7 Tagen beträgt die Menge des reduzierten Zuckers 35% des angewandten Glukosids. Jetzt wird die Flüssigkeit mit dem doppelten Volumen Alkohol vermischt, durch Erwärmen mit Tierkohle auf 50° geklärt und filtriert. Wenn durch diese Operation der größte Teil der Proteinstoffe gefällt ist, kann die Lösung ohne allzu starkes Schäumen unter vermindertem Druck bei 50° eingedampft werden. Der zurückbleibende dünne Sirup wird mit der zehnfachen Menge heißen Essigäthers tüchtig durchgeschüttelt, wobei die gebildete Glukose und andere Stoffe zurückbleiben. Das Filtrat wird verdampft und der Rückstand wieder mit heißem Essigäther ausgelaugt. Diese Operation muß noch einbis zweimal wiederholt werden, bis der Rückstand in viel Essigäther klar löslich ist. Der jetzt beim Verdampfen bleibende Sirup erstarrt nach einiger Zeit kristallinisch. Die Ausbeute beträgt 32% des angewandten Amygdalins. Zur Reinigung wird das Produkt in 10 T. heißem Essigäther gelöst. Beim Erkalten scheidet sich das Glukosid in sehr feinen, langen Nadeln ab. Die Ausbeute an diesem, schon fast reinem Produkt beträgt 16% des angewandten Amygdalins. In kleinen Mengen läßt sich eine rasche und vollständige Reinigung durch Umkristallisieren aus sehr viel heißem Chloroform erzielen.

Darstellung von Naringin.[3])

Die völlig entfalteten Blüten von Citrus decumana werden der Destillation unterworfen, um Neroliöl zu gewinnen. Die nach der Destillation

[1]) *Emil Fischer*, Über ein neues dem Amygdalin ähnliches Glukosid. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. Bd. 28. S. 1509 (1895).

[2]) *Em. Bourquelot*, Über den Nachweis des Rohrzuckers in den Pflanzen mit Hilfe von Invertin. Archiv der Pharmazie. Bd. 245. S. 164 (1907).

[3]) *W. Will*, Über das Naringin. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. Bd. 18. S. 1311 (1885).

in der Blase befindliche Flüssigkeit wird kochend auf ein Kolatorium gegeben, von den Blumen abgepreßt in die Blase zurückgebracht und über einer neuen Menge von Blüten abgezogen. Diese Operation wird so oft wiederholt, bis eine ziemlich konzentrierte Lösung resultiert, aus welcher nach dem Erkalten in einigen Tagen, besonders wenn die Wände des Gefäßes mit einem Glasstab gerieben werden, das Naringin vollständig abgeschieden wird. Die Mutterlaugen enthalten nur so wenig davon gelöst, daß sich ihre weitere Verarbeitung nicht lohnt. Das rohe Naringin wird abfiltriert, ausgepreßt, in kochendem Wasser gelöst, die Lösung mit Eiweiß geklärt, kochend filtriert und das Filtrat mit einem kleinen Überschuß an neutralem essigsauren Blei versetzt. Nachdem sich der entstandene graubraun gefärbte Niederschlag abgesetzt hat, wird die klare Lösung mit schwefelsaurem Kali vom Blei befreit, heiß filtriert und stehen gelassen. Das nach einigen Tagen abgeschiedene Naringin wird wiederholt mit wenig kaltem Wasser angerührt und abgepreßt, bis die ablaufende Flüssigkeit durch neutrales essigsaures Blei nicht mehr getrübt wird, dann bei mäßiger Wärme getrocknet und zu weiterer Reinigung entweder in Alkohol gelöst und in eine größere Menge Wasser gegossen, oder in Eisessig gelöst und mit dem mehrfachen Volumen Wasser versetzt. Nach einigen Tagen kristallisiert das Naringin vollständig farblos aus.

Darstellung von Pikrokrozin.[1])

Bei längere Zeit fortgesetzter Extraktion des getrockneten Safrans mit reinem Äther im Extraktionsapparate treten allmählich in dem Ätherkölbchen reichliche kristallinische Ausscheidungen auf. Dieselben werden durch Filtration von dem Fett und ätherisches Öl enthaltenden Äther befreit, dann nach dem Auswaschen mit reinem Äther mit dem Filter zerrieben, nochmals in den Ätherextraktionsapparat gebracht und wieder längere Zeit in demselben mit Äther behandelt. Es scheiden sich alsdann in dem Ätherkölbchen allmählich schöne farblose Kristalle aus, welche durch Abgießen von Äther befreit und über Schwefelsäure getrocknet werden.

Darstellung von Prulaurasin.[2])

Aus Prunus laurocerasus. 5 *kg* der frischen Blätter von Prunus laurocerasus werden ohne vorherige Zerkleinerung in Anteilen von 300 *g* 10 Minuten lang in 15 *l* siedendes destilliertes Wasser, dem etwas Kalziumkarbonat zugefügt ist, eingetaucht. Die Blätter werden alsdann, nachdem auf diese Weise das darin enthaltene Emulsin zerstört wurde, mit der Maschine zerkleinert und das gesamte Material mit der ursprünglichen Flüssigkeit noch kurze Zeit gekocht. Nach dem Erkalten werden die Blätter

---

[1]) *R. Kayser*, Über im Safran vorhandene Substanzen. Berichte der Deutschen chemischen Gesellschaft. Bd. 17. S. 2233 (1984).

[2]) *H. Hérissey*, Über das Prulaurasin, das Blausäure liefernde Glukosid der Blätter von Prunus laurocerasus. Archiv der Pharmazie. Bd. 245. S. 465 (1907).

ausgepreßt, der Auszug mit Eiweiß geklärt und filtriert. Man erhält 7·5 bis 8 *l* Flüssigkeit. Bei dieser ersten Behandlung der Blätter kann man an Stelle von Wasser auch Alkohol anwenden, jedoch muß derselbe ebenfalls siedend sein. Taucht man die frischen Blätter in kalten oder mäßig warmen Alkohol und erhitzt dann zum Sieden, so tritt eine Zersetzung des Prulaurasins ein, welche sich durch das Auftreten eines starken Geruchs nach Blausäure und nach Benzaldehyd bemerkbar macht.

Gleichgültig, ob man Wasser oder Alkohol zur Extraktion angewendet hat, sind die erhaltenen Auszüge, nach Zusatz von etwas Kalziumkarbonat unter vermindertem Druck bis auf einen Rückstand von 200 cm^3 abzudestillieren, dann setzt man das vierfache Volum von 85%igem Alkohol zu. Es scheidet sich ein voluminöser Niederschlag aus, welchen man nach Verlauf von 24 Stunden abfiltriert. Das klare Filtrat wird zunächst im Wasserbade, dann unter vermindertem Druck zur Trockne eingedampft, und der Rückstand am Rückflußkühler 5mal mit je 200 cm^3 Essigäther, der mit Wasser gesättigt ist, ausgekocht. Die vereinigten Auszüge werden vollständig verdampft und der Rückstand in 250 cm^3 Wasser gelöst. Nach dem Klären der Lösung durch Schütteln mit Kalziumkarbonat und darauffolgendem Filtrieren wird dieselbe zur Beseitigung einer Anzahl störend wirkender Verunreinigungen 4—5mal mit dem doppelten Volum Äther geschüttelt und bei niedriger Temperatur und Gegenwart von Kalziumkarbonat zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird dann am Rückflußkühler mit 250 cm^3 wasserfreiem Essigäther ausgekocht.

Von diesem Stadium der Darstellung an ist es wichtig, nur vollkommen reine und gut entwässerte Lösungsmittel zur weiteren Reinigung anzuwenden.

Diese letzte Lösung in Essigäther ist nur noch sehr wenig gefärbt, so daß sie beim Verdampfen unter vermindertem Druck 40—45 *g* eines Rückstandes liefert, welcher beim Impfen vollständig kristallisiert. Wenn man versucht, diesen Rückstand mit wenig Alkohol oder Essigäther zu behandeln und schließlich damit zu waschen und abzusaugen, so löst er sich rasch in den hierbei angewendeten Flüssigkeiten, sobald dieselben in genügender Menge zur Anwendung gelangen, wieder auf. Andrerseits darf man diesen kristallisierten Rückstand nicht ohne weiteres als homogen betrachten, vielmehr ist es vorzuziehen, denselben umzukristallisieren. Man löst ihn entweder von neuem in wasserfreiem Essigäther oder besser in einem Gemisch von Essigäther und Toluol oder Essigäther und Chloroform. Die heißen Lösungen scheiden einen Teil des Glykosids als Sirup ab, der jedoch alsbald kristallinisch erstarrt. Man erhält jedoch ein vollständig farbloses, gut kristallisiertes Produkt, wenn man der erkalteten Lösung kleine Mengen reinen, wasserfreien Äthers zufügt. Die Kristallisationen erfolgen dann im allgemeinen innerhalb einiger Tage. Das Glykosid scheidet sich hierbei in feinen Nadeln ab, die bisweilen eine Länge von mehreren Zentimetern erreichen. Man saugt sie ab, wäscht sie zunächst mit einem Gemisch aus Essigäther und Äther, alsdann mit reinem Äther nach und

trocknet sie im Vakuum über Schwefelsäure. Die leichte Löslichkeit des Prulaurasins bildet die größte Schwierigkeit seiner Darstellung.

Aus Isoamygdalin. Eine andere Methode zur Darstellung des Prulaurasins ist die Spaltung des Isoamygdalins durch ein Ferment der mit Wasser gewaschenen trockenen Hefe.[1]) Die Ausführung der Operation geschieht nach demselben Verfahren, wie es bei der Darstellung des Mandelsäurenitrilglukosids beschrieben ist (siehe dort).

Darstellung von Sakuranin.[2])

Die zerkleinerte Rinde von Prunus Pseudo-Cerasus var. Sieboldi wird zweimal mit kochendem Wasser, worin etwas Kalziumkarbonat suspendiert ist, ausgezogen, und der Auszug zuerst auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbade eingedampft, bis er beim Erkalten zu einem dicken Extrakt erstarrt. Je etwa 300 *g* desselben werden mit der 10fachen Menge Wasser ausgekocht und die Abkochung, deren Temperatur noch mehr als 90° beträgt, mit 50 cm^3 Basisch-Aluminiumazetatlösung versetzt. Es entsteht ein schmutzig brauner Niederschlag, und nach einigen Minuten erscheint die darüber befindliche Wasserschicht ganz klar. Dann wird das Gemisch möglichst schnell durch ein mit heißem Wasser benetztes Faltenfilter abfiltriert und das Filtrat etwa auf zwei Tage zur Kristallisation hingestellt. Der Niederschlag wird auf einem Tuch gesammelt, mit kaltem Wasser wiederholt gewaschen und langsam getrocknet. Zur Reinigung wird das Rohprodukt in 50—60%igem Alkohol gelöst und das Filtrat bis zur bleibenden Trübung mit Wasser versetzt. Die ausgeschiedenen Kristalle werden noch zweimal aus kochendem, absolutem Alkohol oder aus mit Wasser gesättigtem Essigäther umkristallisiert. Aus je 100 *g* des Extraktes werden 1—3 *g* des Rohglykosids erhalten.

Darstellung von Sinalbin.[3])

10 *kg* weißes Senfmehl wird durch Benzin von fetten Ölen befreit und nach dem Trocknen bei gewöhnlicher Temperatur mit absolutem Alkohol extrahiert, bis die abfließende Flüssigkeit nur noch gelb und nicht mehr rötlich gefärbt erscheint. Jetzt wird das Pulver mit ungefähr dem doppelten Gewicht 85—90%igem Alkohol mehrmals ausgekocht und jedesmal scharf abgepreßt. Die Auszüge werden bis auf die Hälfte des ursprünglichen Volumens eingedampft und warm filtriert. Beim Erkalten scheiden sich voluminöse, aus feinen, gelblich-weißen Nadeln bestehende Flocken aus, die durch Auflösen in heißem Wasser und Kochen mit Tierkohle geklärt und entfärbt werden. Das wässerige Filtrat wird in heißem Alkohol aufge-

[1]) *H. Hérissey,* Gewinnung von Prulaurasin durch Einwirkung eines löslichen Fermentes auf Isoamygdalin. Archiv der Pharmazie. Bd. **245**. S. 639 (1907).

[2]) *Y. Asahina,* Über das Sakuranin, ein neues Glykosid der Rinde von Prunus Pseudo-Cerasus Lindl. var. Sieboldi Maxim. Archiv der Pharmazie. Bd. **246**. S. 261 (1908).

[3]) *J. Gadamer,* Über die Bestandteile des schwarzen und des weißen Senfsamens. Archiv der Pharmazie. Bd. **235**. S. 84 (1897).

fangen und beim Erkalten der Flüssigkeit erhält man das Sinalbin in schwach gelblich gefärbten, nadelförmigen Kristallen. Aus den Mutterlaugen kann durch weiteres Einengen noch eine geringe Menge des Glukosids gewonnen werden. Die Ausbeute beträgt bei vollständiger Erschöpfung 2½ %.

Darstellung von Sinigrin.[1])

Durch Auspressen oder Ausziehen mit Benzin entölte Samen des schwarzen Senfes werden mit dem anderthalbfachen Gewicht 85—90%igen Alkohols zweimal ausgekocht und jedesmal scharf abgepreßt. Dadurch werden die harzigen Extraktivstoffe entfernt, während nur ein Teil Sinigrin mit in Lösung geht. Die getrockneten und wieder zerriebenen Preßkuchen werden alsdann 12 Stunden mit dem dreifachen Gewicht kalten, destillierten Wassers maceriert, die Flüssigkeit abgepreßt und der Rückstand nochmals zwei Stunden lang mit dem doppelten Gewicht Wasser behandelt. Die vereinigten, sauer reagierenden Auszüge werden unter Zusatz von einigen Gramm Baryumkarbonat bis zur neutralen Reaktion im Vakuum bis zum Sirup eingedampft. Derselbe enthält das Sinigrin und die schleimigen Substanzen des Senfsamens. Von letzteren wird es durch zweimaliges Auskochen mit 85—90%igem Alkohol getrennt, wobei vorzugsweise nur das Glukosid in Lösung geht. Die alkoholischen Auszüge werden nach 24stündigem Stehen filtriert und unter vermindertem Druck zu einem dünnen Sirup eingedampft. Je nachdem die harzigen Bestandteile beim ersten Auskochen mit Alkohol mehr oder weniger entfernt sind, kann dann verschieden verfahren werden. Entweder läßt man den Sirup in flachen Schalen stehen, wobei allmählich die gesamte Masse zu einem Kristallbrei erstarrt, oder man kocht ihn mit 94%igem Alkohol aus, wobei das Sinigrin in Lösung geht und nach dem Erkalten fast rein auskristallisiert, während ein alkoholunlösliches Harz zurückbleibt. Das letztere Verfahren ist dann empfehlenswert, wenn es sich darum handelt, möglichst schnell ein reines Präparat zu erhalten. Die nach der ersten Methode erhaltene Kristallmasse wird abgesaugt und aus kochendem Alkohol umkristallisiert. Dabei erhält man jedoch nie ein vollständig farbloses Produkt, stets behält es einen schwach gelbbraunen Schein. Rein farblose Kristalle werden durch Auflösen in Wasser und Kochen mit wenig Tierkohle gewonnen. Der dabei auftretende Geruch nach Senföl und Schwefel weist jedoch darauf hin, daß die Tierkohle zum Teil zersetzend auf das Glukosid einwirkt. In der Tat enthält das farblose Filtrat beträchtliche Mengen von Kaliumsulfat. Es ist daher nötig, das Sinigrin noch so oft aus Alkohol umzukristallisieren, bis eine größere Probe auf Bariumchlorid auch nach längerem Stehen keine Schwefelsäurereaktion mehr gibt. Für die meisten Zwecke ist jedoch ein schwachgefärbtes Präparat genügend, so daß das Behandeln mit Tierkohle, womit die Ausbeuten wesentlich herabgedrückt werden, unterbleiben kann. Die Ausbeute beträgt 1[illegible] %.

---

[1]) *J. Gadamer*, Über die Bestandteile des schwarzen und des weißen Senfsamens. Archiv der Pharmazie. Bd. 235. S. 47 (1897).

und 0·6% an mit Tierkohle gereinigtem Präparat. Die Senfölbestimmungen ergeben einen Gehalt von 3—3·75% Sinigrin. Es steht daher zu erwarten, daß durch zweckmäßige Veränderungen der Darstellungsmethode eine höhere Ausbeute erzielt werden wird.

Darstellung des Verbenalins.[1])

5 *kg* der frischen Blütenstände von Verbena officinalis werden in 10 *l* siedenden 90%igen Alkohol, der etwas Kalziumkarbonat in Suspension enthält, eingetragen und das Gemisch alsdann 20 Minuten am Rückflußkühler gekocht. Nach dem Erkalten werden die Pflanzen zerkleinert und von neuem mit 10 *l* 90%igem Alkohol ausgekocht. Die vereinigten Auszüge werden jetzt in Gegenwart von Kalziumkarbonat unter vermindertem Druck bis zum dünnen Sirup eingedampft und der Rückstand fünfmal mit je 500 cm^3 wasserhältigem Essigäther ausgekocht. Die vereinigten Flüssigkeiten werden bis zur Trockene eingedampft, der Rückstand in 500 cm^3 kaltem Wasser gelöst und das Filtrat so oft mit Äther ausgeschüttelt, bis dieser sich nicht mehr färbt. Die wässerige Flüssigkeit wird unter vermindertem Druck zu einem weichen Extrakt eingedampft und letzteres dreimal mit je 100 cm^3 wasserfreiem Essigäther ausgekocht. Beim Erkalten der siedend heiß filtrierten Auszüge scheidet sich das Glykosid im kristallisierten Zustande ab. Man erhält auf diesem Wege 3—4 *g* rohes Verbenalin pro Kilogramm der Pflanzenteile. Zur Reinigung wird das Glukosid zunächst zweimal aus der fünffachen Menge 95%igen Alkohols unter Anwendung von Tierkohle und hierauf aus 90 Teilen wasserfreiem Essigäther umkristallisiert.

Darstellung des Taxikatins.[2])

Erste Methode. 5 *kg* frischer junger Zweige von Taxus baccata werden in 27 *l* siedendes Wasser, in welchem Kalziumkarbonat suspendiert ist, eingetragen und das Gemisch 20 Minuten lang gekocht. Um eine vollständigere Erschöpfung zu erzielen, werden die ausgekochten Zweige zu einem Brei zerkleinert und nochmals mit derselben Flüssigkeit 20 Minuten lang gekocht. Nach dem Auspressen resultieren etwa 17 *l* Flüssigkeit. Letztere wird mit überschüssigem Bleiessig (200 cm^3 auf 1 *l* Flüssigkeit) ausgefällt und das Filtrat mit Ammoniak (40 cm^3 auf 1 *l* Flüssigkeit) versetzt. Der letztere Niederschlag enthält das Glukosid und die Zuckerarten. Er wird mit einer genau entsprechenden Menge Schwefelsäure zerlegt und das Filtrat in Gegenwart von Kalziumkarbonat unter vermindertem Druck eingedampft und der Rückstand sechsmal mit je 500 cm^3 neutralem, mit Wasser gesättigtem Essigäther heiß behandelt.

Nach dem Abdestillieren des Essigäthers unter vermindertem Druck erstarrt der erhaltene Rückstand beim Erkalten. Er wird mit wenig

[1]) *L. Bourdier,* Über das Verbenalin, das Glykosid der Verbena officinalis. Archiv der Pharmazie. Bd. **246**. S. 275 (1908).

[2]) *Ch. Lefebrve,* Über das Taxikatin, das Glukosid der Blätter von Taxus baccata. Archiv der Pharmazie. Bd. **245**. S. 487 (1907).

95%igem Alkohol angerührt, abgesaugt, zunächst mit 95%igem Alkohol, dann mit Äther gewaschen, endlich aus der 10fachen Menge siedendem Alkohol umkristallisiert. Die nach dieser Darstellungsmethode erhaltenen Ausbeuten sind gering, namentlich im Vergleich zu denen, die bei der Behandlung des ursprünglichen Extraktes mit Emulsin erzielten Resultate zu versprechen scheinen. Die Trennung der durch Bleiessig und durch ammoniakalisches Bleiazetat erzeugten voluminösen Niederschläge ist schwierig und die Kristallisation erfolgt langsam, so daß einzelne Extrakte selbst nach 10 Monaten noch keine Kristalle liefern. Aus diesen Extrakten erhält man das Glukosid wie folgt:

Man löst die Extrakte in 95%igem Alkohol und fügt zu 300 cm^3 dieser Lösung 1500 cm^3 wasserfreien Äthers. Es scheidet sich bald eine reichliche Menge einer schwarzen Masse aus, die durch Abgießen der farblosen Flüssigkeit beseitigt wird. Fügt man zu letzterer noch 1 l wasserfreien Äthers, so scheidet sich ein kristallinischer Niederschlag aus, der sich allmählich an den Wandungen des Gefäßes absetzt. Nach 24 Stunden saugt man die Kristalle ab, löst sie nach dem Trocknen in der 10fachen Menge heißen 95%igen Alkohols und entfärbt mit wenig Tierkohle. Durch Umkristallisieren resultiert dann ein fast reines Produkt.

Zweite Methode. 8 kg frischer Taxuszweige werden unter Zusatz von Kalziumkarbonat mit 26 l Wasser 20 Minuten lang gekocht, die Zweige zerkleinert und mit derselben Flüssigkeit nochmals ebenso lange Zeit gekocht. Die ausgepreßte Masse wird mit 10 l kochendem Wasser übergossen und nach einiger Zeit von neuem ausgepreßt. Die vereinigten, etwa 28 l betragenden Auszüge werden filtriert und bei Gegenwart von Kalziumkarbonat unter vermindertem Druck eingedampft. Der 1200 g betragende Rückstand wird in drei Teile geteilt und jeder Teil zehnmal mit je 500 cm^3 neutralem Essigäther ausgekocht. Die vereinigten Auszüge werden auf 300 cm^3 abdestilliert und zur Kristallisation hergestellt. Die sich ausscheidenden Kristalle sind kein Taxikatin. Sie werden durch Absaugen entfernt, das Filtrat eingedampft, in wenig Alkohol gelöst und durch abermaliges Verdampfen vom Essigäther befreit. Beim Auflösen des schwach braungefärbten, durchscheinenden, 220 g betragenden Extraktes in 2·5 l Wasser scheidet sich eine lockere, weißliche Masse aus. Das Filtrat wird zunächst mit 700 cm^3 Bleiessig und das Filtrat der Bleifällung mit 170 cm^3 Ammoniak versetzt. Der erhaltene zweite Niederschlag wird abgesaugt, mit wenig Wasser, welches mit etwas Bleiessig und Ammoniak versetzt ist, ausgewaschen, dann in 1 l Wasser verteilt und mit verdünnter Schwefelsäure (1:10) zerlegt. Das Filtrat wird unter vermindertem Druck zur Trockne verdampft und der Rückstand fünfmal mit je 400 cm^3 neutralem, wasserfreiem Essigäther ausgekocht. Nach dem Verdampfen des Essigäthers wird der Rückstand in 100 cm^3 95%igen Alkohols gelöst und bis zum weichen Sirup eingedampft. Nach dem Impfen tritt sogleich Kristallisation ein. Die ausgeschiedenen Kristalle werden mit wenig Alkohol angerührt, abgesogen, mit Äther ausgewaschen und bei 30° getrocknet. Es resultieren 8·5 g hellgelb gefärbter

Kristalle, die sich durch Umkristallisieren aus 80 *cm*³ siedendem 95⁰/₀igen Alkohol unter Zusatz von wenig Tierkohle in ein noch weniger gefärbtes Produkt verwandeln lassen. Zur weiteren Reinigung werden die Kristalle dreimal mit je 20 *cm*³ Äther verrieben. 70 *kg* Taxusblätter liefern nur 35 *g* Rohglukosid. In der kalten Jahreszeit ist die Ausbeute beträchtlicher als im Frühjahr. Zur Zeit des Hervorkommens der neuen Blätter enthalten dieselben, wie die Bestimmung des durch Emulsin erzeugten reduzierend wirkenden Zuckers zeigt, nur geringe Mengen des Glukosids.

Die letzte Reinigung des Taxikatins geschieht, indem man 1 T. Taxikatin in 15 Vol. siedendem Alkohol löst und das heiße Filtrat in eine erwärmte Flasche fließen läßt. Nach zweimaliger Wiederholung derselben Operation mit den ausgeschiedenen Kristallen ist das Produkt rein.

Biochemischer Nachweis der Glukoside in den Pflanzen mit Hilfe von Emulsin nach Bourquelot.[1]

Alle bis jetzt bekannten durch Emulsin spaltbaren Glukoside sind linksdrehend und leiten sich von der d-Glukose ab. Demnach kann man das Emulsin als wertvolles Reagens für den Nachweis einer ganzen Gruppe von Glukosiden benutzen.

Nehmen wir eine wässerige Lösung von Salizin. Letzteres ist ein linksdrehendes, nicht reduzierendes Glukosid. Fügt man zu der Lösung Emulsin und wartet eine genügende Zeit, so wird das Salizin durch das Ferment vollständig in d-Glukose und in Saligenin (Salizylalkohol) gespalten. Das erstere Reaktionsprodukt dreht nach rechts, das zweite ist inaktiv. Wenn man diese Lösung des vollständig hydrolysierten Salizins in dem Polarimeter untersucht und dieselbe mit alkalischer Kupferlösung prüft, so wird man beobachten, daß sie rechtsdrehend und reduzierend geworden ist. Da sich derselbe Vorgang bei allen durch Emulsin spaltbaren Glukosiden vollzieht, so ist es klar, daß man, um dieselben in einer wässerigen Lösung vegetabilischen Ursprungs aufzufinden, nur nötig hat, dieser Lösung Emulsin zuzufügen: wenn dann unter dem Einfluß des Enzyms ein Umschlag der ursprünglichen Drehung nach rechts stattfindet und zu gleicher Zeit ein reduzierender Zucker gebildet ist, so enthält die fragliche Lösung ein durch Emulsin spaltbares Glukosid.

Der Umschlag der Drehung nach rechts, ebenso wie die Menge der gebildeten Glukose müssen mit der Menge des gespaltenen Glykosids proportional sein. Das Emulsin kann daher auch dazu dienen, um ein Glykosid in den Vegetabilien annähernd quantitativ zu bestimmen.

Die biochemische Methode hat folgende große Vorteile:

1. Sie erlaubt eine rasche Entscheidung darüber, ob die zu untersuchenden Pflanzenteile ein durch Emulsin spaltbares Glukosid enthalten oder nicht.

[1] *Em. Bourquelot.* Über den Nachweis der Glykoside in den Pflanzen mit Hilfe von Emulsin. Archiv der Pharmazie. Bd. **245**. S. 172 (1907).

2. Die Methode gestattet die annähernde Bestimmung der Menge des vorhandenen Glukosids und demnach kann man voraussehen, ob die Isolierung des Glukosids leicht oder, wegen den geringen Mengen, schwer gelingen wird.

3. Man kann in den meisten Fällen noch vor den Isolierungsversuchen erfahren, ob das vorhandene Glukosid schon bekannt ist oder nicht.

4. Wenn man Pflanzenteile, die ein schon bekanntes Glukosid enthalten, nach der biochemischen Methode untersucht, so kann man durch Vergleich der berechneten bzw. der tatsächlich polarimetrisch ermittelten Glukosemengen das Vorhandensein eines zweiten Glukosids entdecken.

Wird ein bekanntes Glukosid in ein gegebenes Volum Lösungsmittel gelöst, so bleibt das Verhältnis zwischen den Zahlen der Drehungsänderung nach rechts, die unter dem Einfluß des Emulsins stattgefunden hat, sowie der bei dieser Reaktion gebildeten Glukosemengen konstant. Demnach ist die in 100 cm^3 gebildete Glukosemenge, die einem Drehungsrückgang von 1° entspricht, für jedes der bekannten Glukoside leicht zu berechnen. Diese Verhältniszahl ist ein sehr wertvolles Identitätsmerkmal des Glukosids, weil ihre Ermittlung keine Isolierung des Glukosids verlangt.

Nehmen wir an, daß diese Verhältniszahl für jedes der bekannten durch Emulsin spaltbaren Glukoside bestimmt ist, dann sieht man gleich die großen Vorteile der Methode. Man hat den Nachweis gebracht, daß die zu untersuchenden Organe ein durch Emulsin spaltbares Glukosid enthalten. Um zu erfahren, daß das Glukosid schon bekannt ist oder nicht, wird es genügen, das Verhältnis der beobachteten Drehungsänderung und der durch das Reduktionsvermögen bestimmten, gebildeten Glukosemenge zu berechnen und nachzusehen, ob dieser Wert mit einem der bekannten Glukoside übereinstimmt. Ist dies nicht der Fall, so hat man es mit einem neuen Glukosid zu tun. Zweifellos ist dieses Vorgehen nicht immer berechtigt. Enthält z. B. die fragliche Pflanze mehrere durch Emulsin hydrolysierbare Glukoside, so versagt die Methode. Dasselbe geschieht, wenn die Verhältniszahlen von mehreren verschiedenen Glukosiden zufällig gleich oder unwesentlich verschieden sind. In diesem Falle wird die genaue Untersuchung der Spaltungsprodukte den Experimentator aus der Verlegenheit aushelfen.

Diese Verhältniszahl, der e n z y m o l y t i s c h e R e d u k t i o n s k o e f f i z i e n t [1], bedeutet die Glukosemenge q in Milligrammen, die in 100 cm^3 der Lösung frei wird, während das Drehungsvermögen der Lösung in einem Beobachtungsrohr von 2 *dm* Länge um 1° nach rechts umschlägt. Bedeutet dann m das Molekulargewicht des Glukosids und g die aus einem Molekül des Glukosids abspaltbare Glukosemenge, x die Glukosemenge, die

---

[1]) *Em. Bourquelot,* Sur la recherche, dans les végétaux, des glucosides hydrolysable par l'émulsine. Journal de pharmacie de chimie [6]. T. 23 p. 369—375 (1906). Nouvelle contribution à la méthode biochimique de recherche dans les végétaux, des glucosides hydrolysables par l'émulsine: son application à l'étude des plantes employées au médecin populaire. Journal de pharmacie de chimie [7]. T. 2 p. 241—248 (1910).

bei einer Drehungsänderung von 1° nach rechts frei wird, so hat man die Gleichung: $q = \frac{g\,x}{m}$.

Bezeichnen wir dann das Drehungsvermögen des Glukosids mit R (die Drehung der Glukose ist bekannt: $[\alpha]_D^{20} = +52{\cdot}5°$) und bedenkt man, daß der Rückgang des Drehungsvermögens um 1° nach rechts aus der Summe der ursprünglichen Drehung des Glukosids: α, und der Drehung α', die der Hydrolyse der Menge x des Glukosids entspricht, sich zusammensetzt, so haben wir eine zweite Gleichung: $\alpha + \alpha' = 1°$.

Man kann andrerseits die Drehung α als Funktion von x berechnen: und ebenso α' als Funktion von q: $\alpha = \frac{2\,R\,x}{100}$, $\alpha' = \frac{2 \times 52{\cdot}5\,q}{100}$.

Werden die Gleichungen miteinander kombiniert, so erhält man leicht q, das heißt den enzymolytischen Reduktionskoeffizienten aus der Gleichung:

$$q = \frac{100\,g}{2\,R\,m + 105\,g}.$$

Die folgende Zusammenstellung gibt für einige Glukoside den enzymolytischen Reduktionskoeffizienten nebst den Formeln und dem Drehungsvermögen:

Name des Glukosids	Formel	Drehungsvermögen	Enzymolytischer Reduktionskoeffizient
Verbenalin	$C_{17}H_{24}O_{10}$	180·5°	19
Bakankosin	$C_{16}H_{23}NO_{8}$	—206·7°	108
Gentiopikrin	$C_{16}H_{20}O_{9}$	—200·9°	111
Aukubin	$C_{13}H_{19}O_{8}$	—174·4°	144
Meliatin	$C_{15}H_{22}O_{9}$	—81·9°	240
Picein	$C_{14}H_{18}O_{7}$	—84°	261
Koniferin	$C_{16}H_{22}O_{8}$	—66·9°	278
Sambunigrin	$C_{14}H_{17}NO_{6}$	—76·3°	281
Taxikatin	$C_{13}H_{22}O_{7}$	—72·9°	296
Salizin	$C_{13}H_{18}O_{7}$	—64·9°	321
Methylarbutin	$C_{13}H_{18}O_{7}$	—63·4°	326
Prulaurasin	$C_{14}H_{17}NO_{6}$	—53°	359
Isoamygdalin	$C_{20}H_{27}NO_{11}$	—51·4°	425
Amygdalin	$C_{20}H_{27}NO_{11}$	—39°	490
Syringin	$C_{17}H_{24}O_{9}$	—17·1°	570
Amygdonitrilglukosid . . .	$C_{14}H_{17}NO_{6}$	26·9°	517
Arbutin	$C_{12}H_{16}O_{7}$	—63·8°	700
Erytaurin		—134·4°	·
Oleuropein	—	—153°	117
Jasmiflorin	—	—145°	—

Die Berechnung des enzymolytischen Reduktionskoeffizienten soll an dem Beispiel des Salizins gezeigt werden.

Das Salizin wird durch Emulsin unter Bildung von d-Glukose und Saligenin hydrolysiert gemäß der Gleichung:

$$\underset{286}{C_{13}H_{18}O_7} + \underset{18}{H_2O} = \underset{180}{C_6H_{12}O_6} + \underset{124}{C_7H_8O_2}$$

Nehmen wir eine wässerige Lösung von Salizin, die in 100 cm^3 2·86 *g* des Glukosids enthält. Im 2-Dezimeterrohr beobachtet man eine Linksdrehung von — 3·71°. Dieselbe läßt sich unter Zugrundelegung der spezifischen Drehung $[\alpha]_D^{20}$ des Salizins = — 64·9° leicht berechnen:

$$\frac{64·9 \times 2 \times 2·86}{100} = 3·71°.$$

Nach der Hydrolyse mit Emulsin werden 100 cm^3 der Lösung 1·80 *g* Glukose und 1·24 *g* Saligenin enthalten. Diese Glukosemenge besitzt ein Drehungsvermögen von

$$+ \frac{52·5 \times 2 \times 1·8}{100} = + 1·89°.$$

Demnach wird die ursprüngliche Linksdrehung von — 3·71 in + 1·89 umschlagen, der ganze Drehungsrückgang beträgt demnach 3·71° + 1·89° = 5·60°.

Da weder das Salizin noch das Saligenin *Fehling*sche Lösung reduzieren, so beruht das sämtliche Reduktionsvermögen auf die Gegenwart von 1·80 *g* Glukose in 100 cm^3.

Auf 1° Drehungsrückgang fallen demnach 0·321 *g* Glukose.

Eine zweite Gruppe der Glukoside (Verbenalin, Arbutin) gibt bei der Hydrolyse als reduzierendes Prinzip nicht Glukose allein, sondern noch andere reduzierende Körper. Sind die Reduktionswerte der entstehenden Spaltprodukte bekannt, so kann das enzymolytische Reduktionsvermögen ebenfalls berechnet werden, man muß nur die Reduktionswerte des begleitenden Körpers von dem Gesamtreduktionsvermögen abziehen, um den Glukosewert zu erhalten.

Bei den Glukosiden unbekannter Konstitution muß der Koeffizient experimentell bestimmt werden. Es ist aber nötig, das Glukosid in reinem Zustande zu erhalten. Man bereitet dann eine Lösung von bekanntem Gehalt, bestimmt das Drehungsvermögen im 2-Dezimeterrohr vor und nach der Hydrolyse und das Reduktionsvermögen. Aus diesen Daten läßt sich dann der enzymolytische Reduktionskoeffizient berechnen.

Einige Beispiele sollen zeigen, wie fruchtbar diese Methode zur Auffindung und Erkennung von neuen Glukosiden gewesen ist.

Lefebvre[1]) untersuchte die Blätter von Taxus baccata L. und fand, daß bei der Einwirkung von Emulsin eine Verschiebung des Drehungsvermögens nach rechts stattfindet und einer Drehungsänderung von 1° eine Bildung von 0·624 *g* Glukose entspricht. Die letzte Zahl ist von jeder anderen der in der Tabelle angeführten Zahl verschieden, und so konnte

[1]) *Charles Lefebvre*, Über das Taxikatin, ein neues Glukosid aus Taxus baccata L. Journal de Pharmacie et de Chimie [6]. T. 26. p. 241 (1907).

man im voraus sagen, daß das vorliegende Glukosid ein noch unbekanntes ist. Die Isolierung des Glukosids hat diese wohlbegründete Vermutung bestätigt und zur Entdeckung des Taxikatins geführt.

Weitere Glukoside wurden mit Hilfe der biochemischen Methode aufgefunden: In den unterirdischen Teilen von Eremostachys laciniata L.[1]), in Veronica Chamaedrys und Veronica officinalis[2]), Linaria striata DC.[3]), in Lamium album[4]), in Erythraea Centaurium Pers.[5]), in Verbena officinalis[6]), in Hepatica triloba.[7])

Wenn man die Methode auf sämtliche bekannte Pflanzen anwendet, so wird man gewiß nach einigen Jahrzehnten im Besitze von mehreren Hundert neuen Glukosiden gelangen.

Von praktischen Gesichtspunkten aus erfordert die Methode einige peinliche Vorsichtsmaßregeln, sowohl was die Herstellung des Enzyms als auch die Bereitung der Flüssigkeiten betrifft, in welchen der Nachweis der Glukoside bewirkt werden soll.

Behandlung der Gewebe.

Die Veränderungen, welche sich in den von der Pflanze abgetrennten Organen oder in der einmal ausgerissenen Pflanze selbst, solange die Austrocknung derselben noch nicht vollständig ist, vollziehen, betreffen ganz allgemein alle Stoffe, die durch Hydrolyse spaltbar oder durch die Enzyme der Pflanze oxydierbar sind. Deshalb muß man bei der Extraktion der Glukoside ein Verfahren anwenden, das die Arbeit der vorhandenen Enzyme vollständig aufhebt. Dies geschieht durch Behandlung der ganz frischen Pflanzenteile mit 90—95%igem kochenden Alkohol.

Diese Operation kann in einem großen Rundkolben auf dem Wasserbade ausgeführt werden, falls die Menge der Pflanzenteile nicht zu groß

[1]) *Joseph Khouri*, Über die Gegenwart von Stachyose (Manneotetrose) und eines durch Emulsin spaltbaren Glukosids in den unterirdischen Teilen von Eremostachys laciniata L. Journal de Pharmacie et de Chimie [7]. T. 2. p. 193 (1910).

[2]) *J. Vintilesco*, Über die Existenz glukosidischer Bestandteile in zwei Arten der Gattung Veronica L. (Scrofularineen) und über die Schwankungen in ihrem Mengenverhältnis. Journal de Pharmacie et Chimie [7]. T. **1**. p. 162—165 (1910).

[3]) *Em. Bourquelot*, Über die Gegenwart eines cyanwasserstoffhaltigen Glukosids im gestreiften Leinkraut (Linaria striata DC.). Journal de Pharmacie et de Chimie [6]. T. **30**. p. 385—389 (1909).

[4]) *L. Piault*, Über die Gegenwart von Stachyose (Manneotetrose) und einem durch Emulsin spaltbaren Glukosid in den unterirdischen Teilen von Lamium album. Journal de Pharmacie et de Chimie [6]. T. **29**. p. 236 (1909).

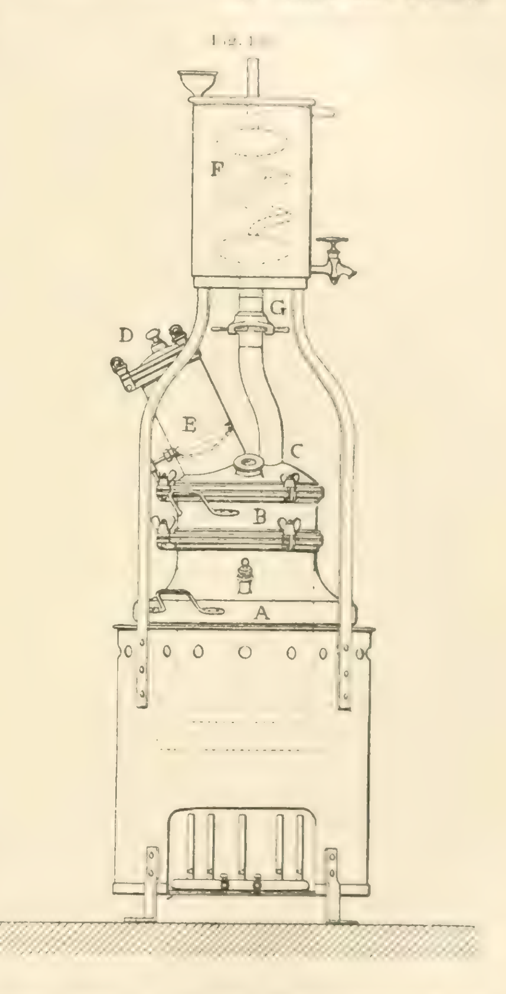
[5]) *H. Hérissey* und *L. Bourdier*, Über ein neues, durch Emulsin spaltbares Glukosid, das Erytaurin, erhalten aus der kleinen Flockenblume. Journal de Pharmacie et de Chimie [6]. T. 28. p. 252 (1908).

[6]) *L. Bourdier*, Über das Verbenalin, ein neues Glukosid aus dem offizinellen Eisenkraut (Verbena officinalis L.). Journal de Pharmacie et de Chimie [6]. T. **27**. p. 49 (1908).

[7]) *A. Delattre*, Application de la méthode biochimique à l'Hépatique trilobée. Présence d'un principe glucosidique dédoublable par l'émulsine. Journal de Pharmacie et de chimie [7]. T. **6**. p. 292 (1912).

ist. Die letzteren müssen möglichst in unzerkleinertem Zustande mit dem kochenden Alkohol in Berührung kommen. Deshalb wird man sich hüten vor der Zerkleinerung des Rohmaterials. Falls diese nicht zu vermeiden ist, wie z. B. bei sehr großen Wurzeln etc., so müssen die Pflanzenteile nach der Zerkleinerung sofort in kochenden Alkohol geworfen werden. Bei Verarbeitung von größeren Mengen ist diese Operation sehr lästig wegen den Alkoholdämpfen, weshalb *Bourquelot* und *Hérissey*[1]) die Anwendung eines Apparates vorschlagen (siehe Fig. 129), das sehr einfach konstruiert, verhältnismäßig billig herstellbar ist, und das Auskochen von sehr viel Rohmaterial in möglichst kurzer Zeit gestattet ohne beträchtliche Verluste an Alkohol. Die Apparatur kann auf jedem beliebigen kupfernen, mit Dampf heizbarem Kessel angebracht werden. Sie besteht aus einem dicht schließenden Deckel *C*, der einerseits mit einem Rückflußkühler *F*, andrerseits mit der Füllvorrichtung *D* und *E* versehen ist. Letztere besteht aus einem schräg in den Kessel mündenden Zylinder, dessen Durchmesser mindestens 12—15 *cm* betragen soll und der mit dem Deckel *D* dicht verschließbar ist. *E* ist eine Platte, die ebenfalls dicht den Zylinder schließt, von außen aber mit Hilfe eines Schlüssels durch eine mit der Längsachse des Zylinders querliegende Achse drehbar ist. Wird der Alkohol in dem kupfernen Kolben zum Kochen gebracht, so werden die Pflanzenteile auf die horizontal gelegene Platte *E* geworfen, und nachdem der Deckel *D* geschlossen ist, wird die Platte *E* mit dem Schlüssel von außen in vertikaler Lage gestellt. Dabei fallen die Pflanzenteile direkt in den kochenden Alkohol. Zwei Guck-löcher gestatten, in das Innere des kupfernen Kessels zu schauen. Man kann

Fig. 129.



[1]) *Em. Bourquelot* u. *H. Hérissey*, Apparat zur Behandlung der frischen Pflanzen mit siedendem Alkohol. Journal de pharmacie et de chimie [7], 3, p. 116—1[illegible] (1911).

hier das Kochen des Alkohols etc. sehr gut beobachten, indem man mit einer elektrischen Lampe das Innere des Kessels beleuchtet.

Wenn die Organe vollständig in den Apparat eingetragen sind, setzt man das Sieden des Alkohols noch etwa 20 Minuten lang fort, um das Gewebe vollständig zu durchdringen. Auf diese Weise ist man sicher, alle Enzyme zu zerstören, so daß man deren Einwirkung auf die folgenden Operationen nicht mehr zu befürchten hat. Man zerstört hierdurch selbst auch die oxydierenden Enzyme, was von Wichtigkeit ist, da unter der Einwirkung der letzteren, welche sich noch in alkoholischer Lösung vollzieht, sich die Flüssigkeiten färben und die Beobachtung im Polarimeter hierdurch unmöglich gemacht werden kann. Die Extraktion mit Alkohol wird wiederholt, um die Pflanzenteile möglichst zu erschöpfen.

Herstellung der zu prüfenden Lösung.

Die erhaltene alkoholische Lösung muß zunächst von dem Alkohol befreit werden. Dies geschieht durch Destillation, am besten unter vermindertem Druck. Da viele pflanzliche Organe organische Säuren enthalten, welche das Glukosid durch Hydrolyse zersetzen können, so ist es erforderlich, der zu destillierenden Lösung Kalziumkarbonat in geringem Überschuß zuzusetzen. Ist die Destillation beendet, so nimmt man den Rückstand mit Thymolwasser auf. Wenn man mehrere Versuchsreihen ausführen will, z. B. von den verschiedenen Arten einer Familie, oder von den verschiedenen Organen derselben Pflanze und zu verschiedenen Vegetationsperioden, so vereinfacht sich der Vergleich der Resultate, wenn man den Destillationsrückstand mit Thymolwasser stets so weit verdünnt, daß das Volum immer in der gleichen Beziehung zu dem Gewicht des extrahierten Materials steht. Es ist zweckmäßig, den Destillationsrückstand mit so viel Thymolwasser zu behandeln, daß die Kubikzentimeterzahl der erhaltenen Lösung gleich ist der Zahl in Grammen, welche von der Pflanze oder einem Organ mit siedendem Alkohol behandelt wurde.

In den meisten Fällen genügt es, mit 250 *g* der Organe derart zu operieren, daß man schließlich 250 cm^3 Lösung erhält.

Das Emulsinpräparat ist kein einheitliches Ferment, sondern ein Gemisch von mehreren Fermenten. Es schließt Laktase, Cellobiase, Gentiobiase und oft auch Invertin ein. Die Gegenwart von Laktase und Gentiobiase ist ohne große Bedeutung, da sie nur auf Zucker (Laktose und Gentiobiose) reagieren, denen man in den frischen Vegetabilien noch nicht oder nur selten begegnet ist. Gentiobiose findet sich nämlich nur während den Monaten Mai und Juni in der Enzianwurzel.[1] Cellobiose wurde überhaupt im Pflanzenreiche noch nicht aufgefunden. Jedoch ist nicht das gleiche der Fall bei dem Invertin, welches den Rohrzucker, welcher überall in den chlorophyllhaltigen Pflanzen vorkommt, spaltet. Bei dieser Spaltung entsteht

[1]) *Marc Bridel*, Veränderungen in der Zusammensetzung der Enzianwurzel im Laufe der Vegetation eines Jahres. Journal de pharmacie et de chimie [7]. T. 3. p. 294—305 (1911).

Invertzucker, d. h. ein linksdrehendes Produkt, welches zum Teil oder ganz die Wirkung des aktiven Emulsins maskieren kann, welche durch die Bildung eines rechtsdrehenden Produktes zum Ausdruck gelangt.

Um die Irrtümer zu vermeiden, welche die Gegenwart des Invertins in dem Emulsin der Mandeln mit sich bringen würde, gibt es nur ein Mittel, nämlich zuvor den in der zu prüfenden Lösung enthaltenen Rohrzucker mit Hilfe von Invertin aus Hefe zunächst zu hydrolysieren. Diese Gelegenheit wird gleichzeitig benützt, um den Nachweis eventuell die Bestimmung des vorhandenen Rohrzuckers in den zu prüfenden Pflanzenteil auszuführen.

Darstellung des Invertins.[1])

Für den Nachweis des Rohrzuckers eignet sich ein Invertinapparat aus Oberhefe. Das unter der Bezeichnung „Bäcker-Hefe" käufliche Produkt genügt vollständig für diese Zwecke. Nachdem man die Hefe mit wenig sterilisiertem Wasser angerührt und rasch abgesogen hat, rührt man dieselbe mit 8—10fachem Gewicht Alkohol von 95% an und läßt hierauf das Gemisch 12—15 Stunden absetzen. Man saugt alsdann die Masse auf einem *Büchner*-schen Filter mit der Pumpe ab, wäscht sie aus, indem man allmählich wenig Alkohol von 95% und dann Äther zufügt, und trocknet sie schließlich bei 30—35° im Trockenschrank. Das getrocknete Produkt hält sich hierauf lange Zeit, geschützt vor Feuchtigkeit in einer gut verschlossenen Flasche.

Es ist unbedingt nötig, daß die angewendete Hefe frisch ist, da dieselbe im verdorbenen Zustande oder wenn sie von Bakterien oder Schimmelpilzen befallen ist, außer Invertin noch Amylase, Maltase und oft noch andere Fermente enthält, die alle befähigt sind, auch noch auf andere Polysaccharide zu reagieren, als auf Rohrzucker.

Man darf daher keine Hefe anwenden, die an der Luft getrocknet ist, da diese Hefe beim Trocknen einen käseartigen Geruch annimmt, welcher anzeigt, daß sich Bakterien entwickelt haben, was auch durch das Mikroskop bestätigt werden kann. Durch Mazeration einer derartig getrockneten Hefe mit Wasser erhält man einen Auszug, der aus Amygdalin Mandelnitrilglukosid[2]) bildet. Die Reaktion ist durch ein Ferment veranlaßt, das weder in der frischen Hefe, noch in der nach obigen Angaben behandelten und getrockneten Hefe enthalten ist.

Zum Gebrauch kann man 1 *g* mit 100 cm^3 Wasser, welches mit Thymol gesättigt ist, anreiben. Nach dem Filtrieren erhält man eine klare, sehr wirksame Lösung von Invertin, die sich über eine Woche lang hält. Man kann auch mit Vorteil das trockene Präparat selbst anwenden, da die Hefe jede Lebensfähigkeit verloren hat. Man fügt es dann direkt der Flüssigkeit zu, in der man den Rohrzucker nachweisen will, die zuvor mit einem geeigneten Antiseptikum versetzt sein muß.

---

[1]) *Em. Bourquelot*, Über den Nachweis des Rohrzuckers in den Pflanzen mit Hilfe von Invertin. Archiv der Pharmazie. Bd. 245. S. 166 (1907).

[2]) *Emil Fischer*, Über ein neues dem Amygdalin ähnliches Glukosid. Berichte. Bd. 28. S. 1509 (1895).

Das so dargestellte Invertinpräparat enthält keine Amygdalase, indem es kein Amygdalin hydrolysiert. Bei Benutzung von Invertinpräparaten muß man sich immer von der Abwesenheit der Amygdalase überzeugen.[1])

Anwendung des Invertins.[2])

Man teilt die zu prüfende Lösung in zwei Teile: den einen A von 50 *cm*³, welcher als Vergleichsobjekt dient, und den anderen B von 200 *cm*³. Man bringt diese Flüssigkeiten in kleine Flaschen, die fest mit einem Korkstopfen verschlossen werden können. Zu der Lösung B fügt man 1 *g* Hefepulver und stellt die beiden Flaschen in einen Brutschrank, dessen Temperatur auf 25—30° reguliert ist.

Nach Verlauf von 2 Tagen führt man den ersten Versuch aus. Hierzu entnimmt man jeder Flasche 20 *cm*³ Flüssigkeit und fügt 4 *cm*³ Bleiessig zu, eine Menge, die im Allgemeinen zur Klärung genügt. Hierauf wird filtriert und im 2-Dezimeterrohr polarisiert. Wenn Rohrzucker vorhanden ist, so wird derselbe in der Flüssigkeit B hydrolytisch gespalten sein, infolgedessen wird der Polarimeter für diese Flüssigkeit einen Umschlag nach links, im Vergleich zu der Flüssigkeit A anzeigen.

Um jeden Zweifel in dieser Beziehung zu beseitigen, vervollständigt man den Versuch noch in folgender Art. Man bestimmt den reduzierenden Zucker in den beiden Flüssigkeiten und findet aus der Differenz die Menge von reduzierendem Zucker, welche durch die Einwirkung des Invertins gebildet ist. Indem man diesen Zucker als Invertzucker betrachtet, berechnet man zunächst die Menge Rohrzucker, welche demselben entspricht, hierauf die Drehungsänderung, welche die Hydrolyse dieser Rohrzuckermenge hervorrufen muß. Der durch Rechnung erhaltene Wert muß mit der beobachteten Drehungsänderung gleich sein. Dies ist der häufigste Fall: wenn jedoch ausnahmsweise diese beiden Werte verschieden sind, so muß man annehmen, daß das untersuchte Organ eine der Rohrzuckerkombinationen (Raffinose, Gentianose, Stachyose) enthält.

Aus dem Gesagten ist es klar, daß der Nachweis des Rohrzuckers auch auf seine quantitative Bestimmung angewendet werden kann. Es genügt hierzu, von neuem tägliche Versuche anzustellen, bis die hydrolytische Wirkung des Invertins beendet ist, wovon man versichert ist, wenn zwei aufeinander folgende Versuche dieselben Resultate geben.

Prüfung der Flüssigkeit mit Emulsin.

Ist die Hydrolyse mit Invertin beendet, so erhitzt man die Lösung 10 Minuten lang auf 100°, läßt dann erkalten und fügt Emulsin hinzu. Die optischen Veränderungen, die genau so verfolgt werden, wie es bei

[1]) *Em. Bourquelot* et *H. Hérissey*, Du choix de la levure dans l'application des procédés biochimiques à la recherche des sucres et des glucosides. Réponse à *M. L. Rosenthaler*. Journal de Pharmacie et de Chimie [7]. T. 6. p. 246 (1912).

[2]) *Em. Bourquelot*, Über den Nachweis des Rohrzuckers in den Pflanzen mit Hilfe von Invertin. Archiv der Pharmazie. Bd. 245. S. 164 (1907).

der Anwendung des Invertins beschrieben ist, repräsentieren dann allein die Fermentwirkung des Emulsins.

Darstellung des Emulsins[1]

100 *g* süße Mandeln werden ungefähr eine Minute lang in kochendes Wasser eingetaucht und nach dem Abtropfen sorgfältig geschält. Hierauf zerstößt man dieselben in einem Mörser ohne Zusatz von Wasser so fein wie möglich und mazeriert alsdann das erhaltene Produkt mit 200 cm^3 eines Gemisches aus gleichen Teilen destilliertem Wasser und Wasser, welches mit Chloroform gesättigt ist. Nach ungefähr 24stündiger Mazeration bei gewöhnlicher Temperatur koliert man unter Auspressen durch ein angefeuchtetes Tuch. Man sammelt auf diese Art 150—160 cm^3 Flüssigkeit, welcher man 10 Tropfen Eisessig zufügt, um das Kasein zu fällen. Hierauf wird durch ein angefeuchtetes Filter filtriert. Das klare Filtrat (120—130 cm^3) fügt man zu 500 cm^3 Alkohol von 95°/₀, sammelt den Niederschlag auf einem glatten Filter und behandelt ihn nach dem Abtropfen mit einem Gemisch aus gleichen Volumen Alkohol und Äther. Nach dem Trocknen im Vakuum über Schwefelsäure erhält man hornartige, durchscheinende Plättchen, welche beim Zerreiben ein nahezu weißes Pulver liefern.

Das auf diese Art dargestellte Emulsin kann seine Wirksamkeit sehr lange Zeit erhalten, wenn es in einer trockenen, gut verkorkten Flasche aufbewahrt wird.

Dieses Verfahren liefert bei genauer Anwendung ein reguläres, gleichmäßiges Emulsin, d. h. wenn auch die Wirksamkeit dieses Produktes je nach der Sorte der behandelten Mandeln wechselt, so ist dieselbe doch die gleiche für die verschiedenen Emulsinproben, welche aus derselben Sorte dargestellt sind.

Beispiel.

Eine Lösung, die den Extrakt aus 100 *g* der frischen Blätter enthält und ein Volum von 100 cm^3 besitzt, wird der Einwirkung von Invertin und dann von Emulsin ausgesetzt. Die Ablesungen erfolgten bei 16 bis 18°.

	Drehung im 2-Dezimeterrohr	Reduzierender Zucker	
		in 100 cm^3	auf 100 *g* der Blätter gebildet
Kontrollversuch	— 0·41°	0·374 *g*	
Nach Invertinbehandlung	— 1·48°	1·001 *g*	0·627 *g* auf einen Rückgang von 1·07°
Nach Emulsinbehandlung (11 Tage)	— 1·15°	1·135 *g*	0·134 *g* auf einen Drehungsrückgang von 0·33°

Enzymolytischer Reduktionskoffizient (für Emulsin) = 243.

[1] *Em. Bourquelot*, Über den Nachweis der Glykoside in den Pflanzen mit Hilfe von Emulsin. Archiv der Pharmazie. Bd. 245. S. 173 (1907).

Tabellarische Zusammenstellung

Name des Glukosids	Zusammensetzung	Kristallform	Schmelzpunkt
Absinthiin [1])	$C_{15}H_{20}O_4$?	Feine, prismatische, seidenglänzende Nadeln	68°
Amygdalin	$C_{20}H_{27}NO_{11} + 3\ H_2O$ CH O—$C_{12}H_{21}O_{10}$ HC⁄⁄╲C—CH ╲CN HC CH CH	Rhombische Prismen mit 3 Mol. Kristallwasser aus Wasser. Glänzende Schuppen mit 2 Mol. Kristallwasser aus 80%igem Alkohol	Die bei 110 bis 120° wasserfrei gewordene Substanz schmilzt bei 215° und erstarrt zu einer glasigen Masse, die wieder bei 125 bis 130° schmilzt
Äsculin [5])	$C_{15}H_{16}O_9 + 2\ H_2O$ — CH — HO C⁄╲CH = CH $C_6H_{11}O_5$.O. C C.O—CO + 2 H_2O — CH —	Kleine Prismen	Das Kristallwasser entweicht bei 120—130°. Schmelzpunkt 205°
α-Antiarin [6])	$C_{27}H_{42}O_{10} + 4\ H_2O$	Rautenförmige Blätter, v. welchen manchmal 2 Ecken abgestumpft sind. Bei langsamer Kristallisation relativ große, beiderseitig zugespitzte Tafeln	Erweicht bei 220°, schmilzt vollständig bei 225°. Das Kristallwasser entweicht bei 105°

[1]) *Senger,* Archiv der Pharmazie. Bd. **230**. S. 94 (1892); *Bourcet*, Über das
[2]) *L. Rosenthaler,* Das Verhalten von *Nesslers* Reagens gegen einige Glukoside (speziell
[3]) *E. R. Deacon,* Eine neue Farbenreaktion für Amygdalin. Chemical News. Vol. **83**. p. 271
of the chemical Society. Vol. **85**. p. 1512 (1904). — [5]) *Schiff,* Spaltung der Glukosiden durch
Hérissey, Comptes rendus. T. **121**. p. 693 (1895); *Schiff,* Zur Konstitution des Äsculins.
Bd. **103**. S. 253 (1868); *H. Kiliani,* Über den Milchsaft von Antaris toxicaria. Archiv der
Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. **43**. S. 3574 (1910). Bd. **46**. S. 667 (1913).

der wichtigen natürlichen Glukoside.

Drehungsvermögen	Löslichkeit	Spalt[illegible]	[illegible]
?	Kaum löslich in Wasser, leichter in Alkohol und in Äther	Mit heißer verdünnter Schwefelsäure entsteht Glukose, eine nicht näher bekannte flüchtige Substanz und ein harzartiger Körper $C_{21}H_{26}O_6$	Schmeckt intensiv bitter. Konzentrierte Schwefelsäure [illegible] Farbe, die bald grünlichblau und nach Zusatz von wenig Wasser dunkelblau wird. Das harzartige Spaltungsprodukt verhält sich wie eine aromat. Oxysäure
$[\alpha]^{18}_D =$ — 41° 16′ (p = 1·636) in wässeriger Lösung	Löslich in 12 T. Wasser bei 12°, in jedem Verhältnisse in siedendem Wasser, ziemlich löslich in Alkohol, unlöslich in Äther	Bei der Einwirkung von Emulsin entstehen Benzaldehyd, Zyanwasserstoff und 2 Mol. Glukose. Dieselbe Spaltung erfolgt beim Kochen mit verdünnten Säuren. Ohne Alkoholbehandlung getrocknete Hefe bildet Mandelnitrilglukosid und Glukose. Ein Enzym der Verdauungsdrüse der Helix pomatia bildet ein nicht reduzierendes Disaccharid	Schmeckt bitter. Gibt mit *Nesslers* Reagens einen gelbroten, schließlich braunroten Niederschlag, der beim Erhitzen seine Farbe kaum verändert.[2]) Mit wenig konzentrierter Schwefelsäure entsteht eine karminrote Färbung, die beim Verdünnen mit Wasser verschwindet.[3]) Bei der Einwirkung von Barytwasser entsteht Isoamygdalin [4])
	Löslich in 576 Teilen Wasser bei 25° und 25 Teilen siedendem Alkohols von 95°	Mit Emulsin und mit verdünnten Säuren wird in Glukose und Äsculetin gespalten	Die wässerige Lösung zeigt eine blaue [illegible], die von Alkalien verstärkt, von Säuren aufgehoben wird
	Löslich in Wasser und in Alkohol, schwerer in Äther	Bei der Säurehydrolyse entsteht Antiarose (eine nicht näher bekannte Methylpentose) neben Antiarigenin $C_{21}H_{28}O_{[illegible]}$ (Schmelzpunkt 180°)	Versetzt man eisenhaltige Schwefelsäure mit einer Spur des Glukosids, so entsteht eine intensiv goldgelbe Lösung, die später in Gelbrot umschlägt

Absinthin. Bulletin de la société chimique de Paris [3]. T. **19**. p. 537 (1898). — Saponine) und Kohlenhydrate. Pharmazeutische Zentralhalle. Bd **47**. S. 581 (1906). — (1901). — [4]) *Dakin*, Die fraktionierte Hydrolyse der Amygdalinsäure, Isoamygdalin. Journ. Überhitzung. Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. **14**. S. 303 (1881); *Bourquelot* und *Liebigs* Annalen. Bd. **161**. S. 73 (1872). — [6]) Dr. *Vry* und *Ludwig*, Journ. f. prakt. Chemie. Pharmazie. Bd. **234**. S. 446 (1896); *H. Kiliani*, Über den Milchsaft von Antiaris toxicaria.

Name des Glukosids	Zusammensetzung	Kristallform	Schmelzpunkt
Asebotin[1])	$C_{24}H_{28}O$[illegible]	Farblose Nadeln aus verdünntem Alkohol	Schmelzpunkt 147·5°
Aukubin[2])	$C_{13}H_{19}O_9 + H_2O$	Farblose, büschelförmig vereinigte Nadeln	Das Kristallwasser entweicht bei 115—120°. Schmelzpunkt 181° (korr.)
Bakankosin[3])	$C_{16}H_{23}O_8N + H_2O$	Große, farblose, luftbeständige Kristalle	Schmelzpunkt bei 157°, nachdem die Substanz wieder erstarrt ist, erhöht sich der Schmelzpunkt auf etwa 200°
Baptisin[4])	$C_{26}H_{32}O_{14} + 9\ H_2O$	Weiße, dünne, drusenförmig gruppierte Kristallnadeln	Sintert bei 150° und schmilzt bei 240°

[1]) *Eykman*, Recueil des travaux chim. de Pays-Bas. T. 1. p. 224 (1882); Recueil des das Aukubin, das Glukosid der Aucuba japonica L. Annales de chimie et de physique hydrolysable par l'emulsine. la bacancosine, retiré des graines d'un Strychnos de Madagascar. durch Emulsin spaltbares Glukosid aus den Samen von Strychnos Vacacoua Baill. Archiv de Pharmacie et de chimie [6]. T. 28. p. 433 (1908). — [4]) *K. Gorter*, Über die Bestand-

Drehungsvermögen	Löslichkeit	Spaltungsprodukte	[illegible] und Eigenschaften
	Leicht löslich in heißem, wenig in kaltem Wasser. Leicht löslich in Eisessig und in Alkohol, wenig in Äther, Chloroform und Benzol. Leicht löslich in verdünnten Alkalien	Mit verdünnten Säuren wird Glukose und Asebogenin C[illegible] H[illegible] O[illegible] (Schmelzpunkt 162 bis 163°) gebildet	Die [illegible] Lösung [illegible] von den gewöhnlichen Metallsalzen nicht gefällt. Ammon[illegible] Bleiazetat gibt eine weiße Fällung
$[\alpha]_D =$ — 164·9° (Prozentgehalt der wässerigen Lösung 1·063)	Bei 20—22° lösen 100 Teile Wasser 35·6, 100 Teile 95%igen Alkohols 1·1 Teile; 100 Teile Methylalkohol 13·8 Teile des Glukosids. Unlöslich in Äther und in Chloroform	Mit Emulsin entsteht Glukose und Aukubigenin (nicht näher bekannt)	
$[\alpha]_D =$ — 196·8° (0·508 *g* Substanz in 15 *cm*³ Wasser)	Löst sich bei 20° in 3164·5 Teilen Essigäther, in 55·7 Teilen 95%igen Alkohols, in 4·08 Teilen Methylalkohol und in 12·4 Teilen Wasser	Wird durch verdünnte Säuren und Emulsin unter Bildung von d-Glukose und eines nicht näher bekannten Körpers C[illegible] H[illegible] O[illegible] N verhältnismäßig langsam gespalten	Liefert keine charakteristische Farbenreaktion. Mit heißer Schwefelsäure gibt es eine schwache rotbraune Färbung, die aber keineswegs spezifisch ist
$[\alpha]_D^{20} =$ — 61° 40′ in 3%iger Eisessiglösung	Schwer löslich in Wasser und in verdünntem Äthylalkohol, leichter in den warmen Lösungsmitteln. Sehr wenig löslich in Chloroform, Äther, Azeton, Benzol und Ligroin, leicht in Eisessig	Bei der Spaltung mit 16%iger Schwefelsäure entsteht neben Rhamnose, Baptigenin C[illegible] H[illegible] O[illegible]	Schwefelsäure gibt eine gelbe Färbung, die nach einiger Zeit ins gelbrote übergeht, wobei gleichzeitig an den Kanten eine grünliche Farbe zum Vorschein kommt. Schwefelsäure mit einer Spur Salpetersäure färbt schnell vorübergehend grün, dann hellgelb und rotbraun. Verdünnt man mit Wasser, so wandelt sich die Farbe in eine schön grüne um. Schwefelsäure mit Kaliumpermanganat gibt eine Violettfärbung. [illegible] schwefelsäure färbt ro[illegible] rot, α-Naphtolschwefelsäure rotviolett

travaux chim. de Pays-Bas. T. 2. p. 99, 200 (1883). — [2]) *Bourquelot* und *Hérissey*, Über [8]. T. 4. p. 289 (1905). — [3]) *E. Bourquelot* und *Hérissey*, Sur un nouveau glucoside Journal de Pharmacie et de Chimie [6]. T. 25. p. 417 (1907); Über das [illegible], ein der Pharmazie. Bd. 247. S. 56 (1909); Neue Untersuchungen über das [illegible] teile der Wurzel von Baptisia tinctoria. Archiv der Pharmazie. Bd. 235. S. 301 (1897).

Name des Glukosids	Zusammensetzung	Kristallform	Schmelzpunkt
Bryonin [1])	$C_{34}H_{70}O_{9}$ und $C_{62}H_{93}O_{31}$	Kleine, hellgelbe, durchsichtige Blättchen	Bis 190 bis 195° erhitzt, bleibt unverändert und erweicht dann ohne zu schmelzen bei 208°
Calmatambin [2])	$C_{19}H_{28}O_{13} + 2\,H_2O$	Farblose Nadeln	Das Kristallwasser entweicht bei 100°. Schmelzpunkt 144—145°
Cerberin [3])	$C_{27}H_{40}O_{8}$	Glänzendweiße Kristalle	Schmelzpunkt 191—192°
Clavicepsin [4])	$C_{18}H_{34}O_{16} + 2\,H_2O$	Farblose Kristalle	Bei 105° wasserfrei, Schmelzpunkt 91°. in wasserfreiem Zustande 198°
Coniferin	$C_{16}H_{22}O_8 + 2\,H_2O$ $CH = CH\,.\,CH_2OH$ $HC \quad CH$ $HC \quad C\,.\,O\,.\,CH_3 + 2\,H_2O$ $C\,.\,O\,.\,C_6H_{11}O_5$	Weiße, atlasglänzende Nadeln	Bei 100° wird wasserfrei, Schmelzpunkt 185°

[1]) *Masson,* Die wirksamen Bestandteile der Bryoniawurzel. Journ. de Pharmacie
Inaug.-Diss. Erlangen 1874. — [2]) *Frank Lee Pyman,* Calmatambin, ein neues Glukosid.
Kenntnis des Cerberins. Archiv der Pharmazie. Bd. **231**. S. 10 (1893). — [4]) *F. Marino-*
Gazzetta chimica italiana. Vol. **41**. II. p. 368—375 (1911).

Drehungsvermögen	Löslichkeit	Spaltungsprodukte	[illegible]
$[\alpha]_D$ = + 41·25° in 5%iger alkoholischer Lösung	Löslich in Wasser und in Alkohol, unlöslich in Äther und in Chloroform	Mit verdünnten heißen Säuren entstehen Glukose, Bryogenin ([illegible]) oder ([illegible]), Fettsäuren und ein aldehydartiger flüchtiger Körper	[illegible] wird durch Bleiessig nicht [illegible] azetat geben starke Niederschläge
$[\alpha]_D$ = — 130·4 (0·4295 *g* Substanz in 8·2 *cm*³ Wasser)	Leicht löslich in Wasser und in Alkohol, wenig löslich in Essigäther, unlöslich in den übrigen organischen Lösungsmitteln	Mit Emulsin entsteht Glukose und Calmatambetin ($C_{13}H_{18}O_{8}$ + $^1/_2$ H_2O)	Das Glukosid löst sich in Schwefelsäure mit schwach grüner Farbe; auf Zusatz von Wasser wird die Flüssigkeit rot. Eisenchlorid und Salpetersäure erzeugen keine Färbungen
$[\alpha]_D^{18}$ = 74·79° in 90%igen Alkohol für c = 2·870; $[\alpha]_D^{21}$ = — 80·81° in Eisessig für c = 3·110	Löst sich in 8·83 Teilen Chloroform, in 12·43 Teilen 90%igen Alkohol, in 178·5 Teilen Äther bei gewöhnlicher Temperatur; in 4974 Teilen Wasser bei 100°, fast unlöslich in Petroläther	Beim Erhitzen in 70%iger alkoholischer Lösung in Gegenwart von Schwefelsäure entsteht Glukose und Cerberetin ($C_{19}H_{26}O_4$)	Mit Schwefelsäure entsteht eine orangerote Färbung, die in Gelb übergeht
$[\alpha]_D^{20}$ = + 142·27°	Leicht löslich in Wasser, schwerlöslich in Alkohol, unlöslich in Äther, Benzol und Chloroform	Durch Säuren wird leicht zu 2 Mol. Glukose und 1 Mol. Mannit hydrolysiert	
$[\alpha]_D^{20}$ — 66·90° in 0·6%iger wässeriger Lösung	10 Teile Wasser lösen bei gewöhnlicher Temperatur 0·51 Teile wasserfreies Koniferin. Leicht löslich in heißem Wasser, wenig in Alkohol, unlöslich in Äther	Bei der Hydrolyse mit verdünnten Säuren entstehen Glukose und harzartige Produkte. Emulsin bildet neben Glukose Koniferylalkohol	Die wässerige Lösung gibt mit Eisenchlorid keine Färbung und fällt nicht mit Bleiessig. Mit Schwefelsäure entsteht eine dunkelviolette, [illegible] Rot übergehende Färbung. Mit Phenol und [illegible] entsteht bei Licht eine blaue Färbung. Mit [illegible] Salzsäure für sich [illegible] wird Koniferin blau. Salzsäure und [illegible] färben [illegible]. Bei der Oxydation mit Chromsäure entsteht [illegible]

et de Chimie [5]. T. 27. p. 300 (1893); *Silber*, Über die Bestandteile [illegible] Journ. of the chemical Society. Vol. 91. p. 1228 (1907). — [illegible] *Zuco* und *F. Pasquero*, Über das Claviceps[illegible]. Ein neues [illegible]

Name des Glukosids	Zusammensetzung	Kristallform	Schmelzpunkt
Dhurrin[1])	$C_{14}H_{17}O_7N + H_2O$ CH ⁄ $OC_6H_{11}O_5$ HC ⁄ \C—CH \CN OH . C \\ ⁄ CH CH	Wohlausgebildete Kristalle	
Erytaurin[2])		Farblose Prismen	
Gaultherin	$C_{14}H_{18}O_8 + H_2O$ C . CO . O . CH_3 HC ⁄ \CH HC \ ⁄ C . O . $C_6H_{11}O_5$ CH	Farblose Nadeln	Besitzt keinen deutlichen Schmelzpunkt
Gentiin[3])	$C_{25}H_{28}O_{14}$	Mikroskopische gelbliche Nadeln	Schmelzpunkt 274°
Gentiopikrin[4])	$C_{16}H_{20}O_9 + {}^1/_2 H_2O$	Orthorhombische Kristalle	Schmilzt wasserhaltig bei 122°, wird wieder fest und schmilzt dann bei 191°
Glucogallin[5])	$C_{13}H_{16}O_{10}$ C.COOH —C ⁄ \C— │ . O . $C_6H_{11}O_5$ HC ⁄⁄ CH │ . OH C │ . OH	Kleine monokline Kristalle	Schmelzpunkt unter Zersetzung gegen 200°

[1]) *Dunstan* und *Henry*, Cyanbildung bei Pflanzen. Chemical News. Vol. **85**. p. 301
Glukosid, das Erytaurin, erhalten aus der kleinen Flockenblume. Journ. de Pharmacie
société chimique de France [3]. T. **33**. p. 1073 (1905). — [4]) *E. Bourquelot* und *H. Hérissey*,
Glukotannoide. Bulletin de l'Academie Royale de Médecine de Belg. [4]. T. **16**. p. 831

Drehungsvermögen	Löslichkeit	Spaltungsprodukte	[illegible]
	Leicht löslich in Alkohol und in Wasser	Emulsin spaltet Glukose, Paraoxybenzaldehyd und Cyanwasserstoff ab	
[α]D = — 134·4° (v = 11·35 *cm*³, p = 0·1110 *g*)		Wird durch Emulsin langsam hydrilysiert	Mit Ferricyankalium und Ferrichlorid entsteht eine blaue Färbung. Die Lösung wird mit Bleiessig und Ammoniak gefällt
	Leicht löslich in Wasser, Alkohol und Eisessig; fast unlöslich in Äther, Chloroform, Azeton und Benzol	Wird durch verdünnte heiße Mineralsäuren und das Enzym Gaultherin in Glukose und Salizylsäuremethylester gespalten. Emulsin bewirkt keine Spaltung	Mit konzentrierter Schwefelsäure entsteht eine blaßrosa Färbung, die bald in Braun und schließlich in Schwarz übergeht
	Löst sich in 450 Teilen heißem 90%igem, 350 Teilen 80%igem und 250 Teilen 60%igem Alkohol	Mit heißen verdünnten Säuren entstehen d-Glukose, l-Xylose und Gentienin ($C_{14}H_{10}O_5$; Schmelzpunkt 225°)	Mit Natriumamalgam entsteht eine rote Lösung, die sich auf Zusatz von Eisenchlorid grünlichschwarz färbt. In Salpetersäure löst sich Gentiin mit grüner Farbe
[α]D = — 201·2° in wässeriger Lösung (p = 0·80 *g*, v = 14 *cm*³), auf wasserfreie Substanz berechnet	Löslich bei 15° in 4 Teilen Wasser in 23·3 Teilen Alkohol von 95% in 6·9 Teilen siedenden Alkohols; bei 17° in 23 Teilen Essigäther, unlöslich in Äther	Emulsin spaltet d-Glukose und Gentiogenin ($C_{10}H_{14}O_4$) ab. Bei der Säurehydrolyse entsteht d-Glukose und ein harzartiger dem Gentiogenin ähnlicher Körper	Reduziert die *Fehlingsche* Lösung. Gibt mit Ammoniummolybdenat und konzentrierter Schwefelsäure eine blaue, mit Zinkchlorid und konzentrierter Schwefelsäure eine rote und mit Uranazetat und Ammoniak eine orangerote Färbung
	Löslich in Wasser, Methylalkohol und 80%igem Alkohol, sehr wenig in Azeton, Äther und abs. Alkohol; unlöslich in Benzol, Chloroform und Petroläther	Beim Kochen mit verdünnten Säuren entstehen d-Glukose und Gallussäure	Eisensalze geben dunkelblaue, Cyankalium eine hellrote Färbung. Die wässerige Lösung gibt mit Bleiazetat oder Kaliumantimonyltartrat [illegible] Niederschlag

(1902). — [2]) *H. Hérissey* und *Bourdier*, Über ein neues, durch Emulsin spaltbares et de Chimie [6]. T. 28. p. 252 (1908). — [3]) *Tanret*, Über das Gentiin. Bulletin de la Journ. de Pharmacie et de Chimie. T. 9. p. 220 (1899). — [5]) *Gilson*, Über zwei neue (1902).

Name des Glukosids	Zusammensetzung	Kristallform	Schmelzpunkt
Gluko-vanillin[1]	$C_{14}H_{18}O_8 + 2\,H_2O$ C . CHO HC CH HC C . O . CH_3 + 2 H_2O C . O . $C_6H_{11}O_5$	Feine Nadeln, die meist büschel- oder sternförmig verwachsen sind	Das Kristallwasser entweicht bei 100⁰, schmilzt bei 192⁰
Glyzyphyllin[2]	$C_{21}H_{24}O_9 + 3\,H_2O$ und $4^1/_2\,H_2O$	Aus Äther Kristalle mit 3 Mol. Wasser; aus Wasser in dünnen, glänzenden, vierseitigen Prismen mit $4^1/_2$ Mol. Wasser	Bei 100—110⁰ wird wasserfrei, bei 115⁰ fängt an sich zu zersetzen und schmilzt bei 175—180⁰
Hederin[3]	$C_{64}H_{104}O_{19}$	Lange Nadeln aus Alkohol	Schmelzpunkt 248⁰
Helizin	$C_{13}H_{16}O_7 + \frac{3}{4}\,H_2O$ C . CHO HC C . O . $C_6H_{11}O_5$ HC CH + $\frac{3}{4}$ H_2O CH	Feine, büschelig vereinigte Nadeln	Wird bei 100⁰ wasserfrei, schmilzt bei 174—175⁰

[1]) *Ferd. Tiemann,* Über Glukovanillin und Glukovanillylalkohol. Ber. d. Deutschen einiger Glukoside. Ber. d. Deutschen. chem. Gesellsch. Bd. **42**. S. 1465 (1909). — [2]) *Wright* Journ. of the chemical Society London. Vol. **39**. p. 237 (1881). — *Rennie,* Über Glyzy- Vol. **49**. p. 857 (1886). — [3]) *Hermann Block.* Die Bestandteile der Epheupflanze (Hedera des Epheus. Comptes rendus. T. **128**. p. 1463 (1899).

Drehungsvermogen	Loslichkeit	Spaltungsprodukte	[illegible] und Eigenschaften
$[\alpha]_D^{20}$ = — 88·63° in 0·9°/₀iger wässeriger Lösung	Ziemlich leicht löslich in heißem Wasser, etwas schwerer in Alkohol, fast unlöslich in Äther	Emulsin oder heiße verdünnte Säuren spalten d-Glukose und Vanillin ab	Mit Natriumamalgam entsteht Glukovanillylalkohol, mit [illegible] Glukovanillinsäure
	Wenig löslich in kaltem Wasser, leicht in heißem Wasser und in Alkohol, ziemlich leicht in Äther. Unlöslich in Chloroform, Benzol und Ligroin	Beim Kochen mit verdünnten Säuren wird in Phloretin ($C_{15}H_{14}O_5$) und Rhamnose gespalten	Fällt mit basischem, aber nicht mit neutralem Bleiazetat
$[\alpha]_D^{22}$ = — 16·27	Löslich in 54 Teilen 90%igem Alkohol bei 18° und in 6·22 Teilen siedendem 90%igen Alkohol; in 805 Teilen Azeton bei 18°, in 333 Teilen siedendem Azeton. Schwer löslich in Äther und Benzol, unlöslich in Wasser und Petroläther	Bei der Hydrolyse mit 4%iger Schwefelsäure entsteht Hederidin ($C_{26}H_{40}O_4$. Schmelzpunkt 324°), Rhamnose und Hederose ($C_6H_{12}O_6$)	Mit konzentrierter Schwefelsäure gibt es nach einiger Zeit in der Kälte eine violette Färbung, die sogleich eintritt beim Erwärmen oder unter Hinzufügung einer Spur Wasser. Überschichtet man die durch das Glykosid violett gefärbte Schwefelsäure mit Wasser, so zeigt sich an der Berührungsstelle eine blaue Zone
$[\alpha]_D^{20}$ = — 60·43° in wässeriger Lösung (c = 1·35). $[\alpha]_D^{20}$ = — 47·04° in 50%igen Alkohol (p = 3—9)	Löslich in 64 Teilen Wasser bei 8°; sehr leicht löslich in heißem Wasser, unlöslich in Äther	Bei der Hydrolyse mit warmen verdünnten Mineralsäuren, Alkalien oder Emulsin wird in d-Glukose und Salizylaldehyd gespalten	Mit konzentrierter Schwefelsäure entsteht eine gelbe Färbung. Eine Lösung von Rosanilin in überschüssiger schwefliger Säure wird rotviolett gefärbt. Bei der Reduktion mit Natriumamalgam oder Zink und Schwefelsäure entsteht Salizin

chem. Gesellsch. Bd. **18**. S. 1596 (1885); *Emil Fischer* und *Karl Raske*, Synthese
und *Rennie*, Über die süßschmeckende Substanz in den Blattern von [illegible]
phyllin, der Süßstoff von Smilax glycyphylla. Journ. of the chemical Society London.
helix). Archiv d. Pharmazie. Bd. **226**. S. 962 (1888); *Houdas*, Beitrag zum Studium

Name des Glukosids	Zusammensetzung	Kristallform	Schmelzpunkt
Hesperidin[1])	$C_{50}H_{60}O_{27}$	Farblose, mikroskopische Nadeln	
Iridin [2])	$C_{24}H_{26}O_{13}$ $CH_3 . O . C$ — CH $CH_3 . O . C\langle$ $\rangle C . CH_2 . C .$ CH — CH $O . C$ — $C . O . CH_3$ $CO . C\langle$ $\rangle C . O . C_6H_{11}O_5$ $O . C$ — CH	Farblose feine Nadeln	Schmelzpunkt 208°
Linamarin [3]) (Phaseolunatin)	$C_{10}H_{17}O_6N$ $\frac{CH_3}{CH_3}\rangle C\langle\frac{O-C_6H_{11}O_5}{CN}$	Farblose Nadeln	Schmelzpunkt 141°

[1]) *Wiel,* Über den Zucker aus Hesperidin und Naringin. Ber. d. Deutschen chem. p. 20 (1888). — [2]) *G. de Laire* und *Ferd. Tiemann,* Über das Iridin, das Glukosid der und *Dunstan,* Über die Bildung von Cyanwasserstoffsäure in den Pflanzen. Annales Cyanbildung in Pflanzen. VI. Das Phaseolunatin und die vereinten Enzyme in (1907).

Drehungsvermögen	Löslichkeit	Spaltungsprodukte	[illegible]
	Nahezu unlöslich in kaltem Wasser, schwer löslich in heißem (5000 Teile). Leichter löslich in Alkohol und in heißem Eisessig, unlöslich in Äther und in Benzol	Bei der Spaltung mit 2% Schwefelsäure in 50%igem Alkohol bei 115 bis 120° entstehen Rhamnose, d-Glukose und Hesperetin	Wird H[illegible] mit wenig verdünnter Kalilauge [illegible] mit verdünnter [illegible] säure [illegible] und vorsichtig erwärmt, so treten rote bis violette Färbungen auf. [illegible] Glukosid wenige Minuten mit Wasser und Natriumamalgam, filtriert die orangegelbe Lösung und fügt Salzsäure hinzu, so entsteht ein Niederschlag, der in Alkohol mit rotvioletter Farbe löslich ist
	100 cm^3 Wasser lösen bei Zimmertemperatur zirka 0·2 *g*, 100 cm^3 Azeton zirka 3 *g*. Leicht löslich in heißem Alkohol, unlöslich in Äther, Benzol, Chloroform	Bei der Hydrolyse mit alkoholischer Schwefelsäure entsteht d-Glukose und Irigenin $C_{18}H_{16}O_8$	
$[\alpha]_D^{15} =$ — 27·4° in alkoholischer Lösung	Leicht löslich in Azeton und Chloroform, löslich in wässerigem Alkohol, unlöslich in absolutem Alkohol	Ein Enzym des Phaseolus lunatus spaltet Azeton, d-Glukose und Cyanwasserstoff ab. Dieselbe Hydrolyse erfolgt bei der Einwirkung von Hefenauszug und verdünnten Säuren. Gegen Emulsin ist das Glukosid indifferent	

Gesellsch. Bd. **20**. S. 1186 (1887): *Tanret*, Bulletin de la société [illegible] [illegible] T. 49 Veilchenwurzel. Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. **26**. S. 2010 (1893) [illegible] de Chimie et de Physique [8]. T. **10**. p. 118 (1907): *Henry*, [illegible] und [illegible] Flachs, Kassava und Limabohnen. Proceeding of the Royal Society. Vol. 79 [illegible]

Name des Glukosids	Zusammensetzung	Kristallform	Schmelzpunkt
Mandelnitril-glukosid [1]	$C_{14}H_{17}O_6N$ CH CN CH C . CH CH CH O . $C_6H_{11}O_5$ CH	Feine Nadeln aus Chloroform	147—149°
Naringin [2]	$C_{21}H_{26}O_{11} + 4\ H_2O$	Kleine zitronengelbe Prismen	Die wasserfreie Substanz schmilzt bei 171°
Periplocin [3]	$C_{30}H_{48}O_{12}$	Lange, dünne Nadeln aus Wasser	205°
Picein [4]	$C_{14}H_{18}O_7 + H_2O$ C . CO . CH_3 HC CH HC CH C . O . $C_6H_{11}O_5$	Seidenglänzende prismatische Nadeln	194°

[1]) *Emil Fischer,* Über ein neues, dem Amygdalin ähnliches Glukosid. Ber. d. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. **18**. S. 1311 (1885); Über das Naringin. Ber. d. kognostisch-chemische Untersuchungen über die Periploca graeca. Archiv d. Pharmazie. T. **11**. p. 944 (1894).

Drehungsvermögen	Löslichkeit	Spaltungsprodukte	[illegible]
$[\alpha]_D^{20} =$ — 26·85° in 9%iger wässeriger Lösung	Sehr leicht löslich in kaltem Wasser, Alkohol und Azeton. In 20 Teilen Essigäther ziemlich rasch löslich, von warmem Chloroform verlangt 2000 Teile	Bei der Spaltung mit Emulsin und verdünnten Säuren entsteht Benzaldehyd, Cyanwasserstoff und d-Glukose. Bei der Hydrolyse mit konzentrierter Salzsäure entsteht l-Mandelsäure	[illegible] mit Barytwasser in Prulau- [illegible]
Das molekulare Drehungsvermögen ist $[\alpha]_D^{17} =$ — 84·5° in wässeriger Lösung und $[\alpha]_D^{17} =$ — 87·6° in alkoholischer Lösung	Leicht löslich in Alkohol und in heißem Wasser, löslich in 300 Teilen kaltem Wasser. Unlöslich in Chloroform, Äther und Benzol	Mit verdünnten heißen Säuren wird Naringenin, d-Glukose und Rhamnose gebildet	Mit Eisenchlorid entsteht eine tief braunrote Färbung. Natriumamalgam erzeugt einen Farbstoff, der in Alkohol mit roter Farbe und bläulicher Fluoreszenz löslich ist
$[\alpha]_D^{16} =$ + 20° in 5%iger alkoholischer Lösung	Löslich in 125 Teilen Wasser bei Zimmertemperatur; weniger löslich in warmem Wasser. Leicht löslich in Äthyl und Amylalkohol; fast unlöslich in Äther, Chloroform und Benzol	Bei der Spaltung mit heißen verdünnten Säuren entsteht d-Glukose und Periplogenin ($C_{24}H_{34}O_5$ $[\alpha]_D$ + 30° in Alkohol)	Mit konzentrierter Schwefelsäure werden die Kristalle braunrot gefärbt. Die Lösung in konzentrierter Schwefelsäure ist blauviolett und geht in Indigoblau über. Konzentrierte Salpetersäure bildet eine schnell vorübergehende Rosafärbung, die dann in Gelb übergeht. Diese Lösung wird auf Zusatz von Cyankali rot
$[\alpha]_D^{35} =$ — 84° in wässeriger 2·5%iger Lösung	Leicht löslich in warmem Wasser und in Alkohol, weniger in kaltem; unlöslich in Äther und in Chloroform	Mit heißen verdünnten Säuren und bei der Einwirkung von Emulsin entsteht d-Glukose und Pizeol ([illegible])	Die Lösung in konzentrierter [illegible] sich rotbraun. Die wässerige [illegible]

Deutschen chem. Gesellsch. Bd. 28. S. 1508 (1895). — [2]) *Will*, Über das Naringin. Ber. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. 20. S. 295 (1887). — [3]) *Eduard Lehmann*, Pharma- Bd. 235. S. 157 (1897). — [4]) *[illegible]*, Bulletin de la société [illegible]

Name des Glukosids	Zusammensetzung	Kristallform	Schmelzpunkt
Prulaurasin[1]	$C_{14}H_{17}NO_6$	Farblose, sehr dünne Nadeln	120—122°
Populin	$C_{20}H_{22}O_8 + 2H_2O$ C . CH_2OH HC⁄⁄\C . O . $C_6H_{10}(CO . C_6H_5)O_5$ HC\⁄⁄CH $+ 2H_2O$ CH	Feine Nadeln	Das Kristallwasser entweicht bei 100°. Schmelzpunkt 180°
Salizin	$C_{13}H_{18}O_7$ CH HC⁄\\C . $CH_2(OH)$ HC\⁄C . O . $C_6H_{11}O_5$ CH	Farblose Nadeln, Blättchen oder rhombische Prismen	201°
Salizinerein[2])	$C_{13}H_{20}O_7$	Mikroskopische, büschelförmig gruppierte Nadeln	192° (korr.)

[1]) *H. Hérissey,* Sur la „prulaurasine" glucoside cyanhydrique cristallisé retiré
E. Bourquelot et *H. Hérissey,* Isomerie dans les glucosides cyanhydriques. Sambuni-
[2]) *Jacoby,* Beiträge zur Chemie der Salixrinden. Inaugural-Dissert. Dorpat 1890.

Drehungsvermögen	Löslichkeit	Spaltungsprodukte	Charakteristische Reaktionen und Eigenschaften
$[\alpha]_D$ — 52·63° in wässeriger Lösung (0·2850 *g* in 15 *cm*³)	Leicht löslich in Wasser, Alkohol, Essigäther, nahezu unlöslich in Äther	Bei der Hydrolyse mit Emulsin entsteht d-Glukose, Benzaldehyd und Cyanwasserstoff. Mit konzentrierter Schwefelsäure entsteht d, l-Mandelsäure	
	Löslich in 2420 Teilen Wasser bei 15°, leichter in Alkohol, schwer in Äther	Bei der Hydrolyse mit verdünnten Säuren entsteht d-Glukose, Saliretin und Benzoësäure	Mit konzentrierter Schwefelsäure entsteht eine amarantrote Färbung
$[\alpha]_D^{20}$ = — 62·56° in 5%wässeriger Lösung	Löst sich bei 11° in 29·4 Teilen Wasser, löslich in Alkohol, unlöslich in Äther	Bei der Hydrolyse mit heißen verdünnten Säuren entsteht d-Glukose und Saliretin ($C_{14}H_{12}O_3$). Beim schwachen Erwärmen mit verdünnten Säuren oder bei der Behandlung mit Emulsion bildet sich d-Glukose und Saligenin	Mit kalter konzentrierter Schwefelsäure entsteht eine rote Lösung. *Nesslers* Reagens erzeugt einen gelblichen, kristallinischen Niederschlag, der beim Erhitzen grau wird. Der nach dem Abdampfen mit Salpetersäure hinterbleibende Rückstand färbt sich beim Erwärmen mit Alkalien dunkelgelb, mit Cyankalium blutrot
$[\alpha]_D$ = — 103·83° in 3%iger Lösung der Substanz in 80%igen Alkohol	Löst sich bei 20—21° in 51·3 Teilen Wasser, in 34 Teilen Alkohol, in 1300 Teilen Essigäther. Schwer löslich in Äther	Bei der Einwirkung von Emulsin oder von kochenden verdünnten Säuren entsteht d-Glukose und Salizineretin ($C_9H_{10}O_2$, Schmelzpunkt 108°)	

des feuilles de laurier-cerise. Journal de Pharmacie et de Chimie [6]. T. 23. p. [illegible] (1906).
grine et prulaurasine. Journ. de Pharmacie et de Chimie [6]. T. 26. p. [illegible] (1907). —

Name des Glukosids	Zusammensetzung	Kristallform	Schmelzpunkt
Sambunigrin [1]	$C_{14}H_{17}NO_6$	Lange, farblose Nadeln	Sintert bei 149°, schmilzt bei 151—152°
Sinalbin	$C_{30}H_{42}N_2S_2O_{15} + 5H_2O$ $O-SO_2-O-C_{16}H_{24}O_5$ $\mid$ $C-S-C_6H_{11}O_5 \quad + 5H_2O$ $\parallel$ $N-CH_2-C_6H_4 . OH (1,4)$	Schwach gelblich gefärbte kurze Nadeln	Schmilzt lufttrocken bei 83—84°, wasserfrei bei 138·5—140°
Taxikatin [2]	$C_{13}H_{22}O_7 + 2H_2O$	Farblose Nadeln	Schmelzpunkt wasserhaltig bei 168° (korr.) wasserfrei bei 169—170° (korr.)
Verbenalin [3]	$C_{17}H_{25}O_{10}$	Farblose Nadeln	181·6°

[1]) *E. Bourquelot* und *Em. Danjou*, Sur la „sambunigrin" glucoside cyanhydrique T. 22. p. 385 (1905). — [2]) *Ch. Lefebvre*, Über das Taxikatin, das Glykosid der Blätter Pharmacie et de Chimie [6]. T. 26. p. 241 (1907). — [3]) *L. Bourdier*, Über das Ver- (1908).

Drehungsvermögen	Löslichkeit	Spaltungsprodukte	[illegible]
$[\alpha]_D =$ — 76·3° in wässeriger Lösung	Löst sich bei 20° in 3·5 Teilen Wasser, leicht löslich in Alkohol, löslich in Essigäther	Mit Emulsin entsteht d-Glukose, Benzaldehyd und Cyanwasserstoff. Bei der Hydrolyse mit konzentrierter Salzsäure entsteht d-Mandelsäure	Bei der Behandlung mit [illegible] geht in [illegible] über
$[\alpha]_D =$ — 8° 23′	Ziemlich löslich in kaltem, leicht in heißem Wasser, schwer löslich in Alkohol, unlöslich in Äther	Wird durch Myrosin in d-Glukose, p-Oxytolylsenföl und Sinapinbisulfat gespalten	
$[\alpha]_D =$ — 72·93 (v = 50 cm^3, p = 0·5255 g) in wässeriger Lösung	Löslich bei 20° in 59 Teilen Wasser, reichlich löslich in Alkohol und Essigäther, unlöslich in Äther und in Chloroform	Mit Emulsin oder mit heißer verdünnter Schwefelsäure entsteht d-Glukose und ein in Äther, Essigäther und Chloroform leicht löslicher, in Alkohol ziemlich und in Äther schwer löslicher Körper	
$[\alpha]_D =$ — 180·32° in wässeriger Lösung (p = 0·3050 g, v = 15 cm^3)	100 g Wasser lösen bei 18° 21·12 g, absoluter Alkohol 1·148 g, wasserfreier Essigäther 0·415 g und Azeton 0·912 g Verbenalin	Mit Emulsin oder heißer verdünnter Schwefelsäure entsteht d-Glukose und ein hellgelbes amorphes Pulver	Reduziert *Fehling*sche Lösung und ammoniakalische Silberlösung. Phenylhydrazin gibt einen amorphen roten Niederschlag

nouveau, retiré des feuilles de Sureau noir. Journal de Pharmacie et de Chimie [illegible]
von Taxus Baccata L. Archiv d. Pharmazie Bd. 245. S. 486 [illegible]
benalin, das Glykosid der Verbena officinalis L. Archiv der Pharmazie Bd. 246 [illegible]

Das Arbeiten mit radioaktiven Strahlen.

Von **Erich Regener**, Berlin.

Die Strahlen der radioaktiven Körper sind ihrem Wesen nach sehr ähnlich den drei Strahlenarten, welche beim Durchgang der Elektrizität durch stark verdünnte Gase auftreten, den Röntgen-, Kathoden- und Kanalstrahlen. Der Hauptunterschied liegt in dem viel größeren Durchdringungsvermögen, welches die radioaktiven Strahlen den elektrischen Entladungsstrahlen gegenüber aufweisen. Hierin liegt bereits ein Vorzug, welchen die radioaktiven Strahlen für biologische Versuche bieten. Noch mehr fällt aber meistens die außerordentlich bequeme Anwendungsweise, die bei den radioaktiven Strahlen möglich ist, für die letzteren ins Gewicht. Denn während zur Erzeugung der Röntgenstrahlen, noch mehr aber für diejenige der Kathodenstrahlen[1]) ein umständlicher Apparat nötig ist, der ein ganzes Laboratorium in Tätigkeit setzt und von diesem, insbesonders von dem Vorhandensein elektrischen Stromes, abhängig ist, ist dies alles bei den radioaktiven Strahlen überflüssig. Ein Stückchen Radium leistet dasselbe wie eine Röntgenröhre mit dem ganzen dazu nötigen Apparat: es sendet Strahlen aus, und zwar röntgenstrahlenähnliche und andere, je nach der Versuchsanordnung, deren Intensität zwar im allgemeinen nicht so groß ist wie diejenige der künstlich hergestellten Röntgenstrahlen, deren Wirkung aber durch längere Wirkungsdauer leicht vervielfältigt werden kann, da die Strahlungsintensität des Radiums praktisch konstant ist. Mit dem Radium als Strahlungsquelle kann man ferner im Gegensatze zur Röntgenröhre überall hin: es kann in eine Kammer unter das Mikroskop gebracht werden, es kann außerhalb des Laboratoriums am Versuchsobjekt in der freien Natur, ja selbst im Innern des lebenden Körpers appliziert werden. Diese Vorzüge machen es verständlich, daß die biochemische Forschung sich der radioaktiven Strahlen bereits vielfach bedient und sicher auf

---

[1]) Kathodenstrahlen können aus einer Entladungsröhre durch ein sogenanntes *Lenard*sches Fenster in die freie Luft austreten. Die positiven Kanalstrahlen hat man bisher nur innerhalb einer elektrischen Entladungsröhre bei ganz geringen Drucken erzeugen können. Sie kommen also für die Biologie nicht in Betracht.

vielen Gebieten noch zu aussichtsreicher Anwendung bringen wird. Es soll darum auch hier dem Arbeiten mit den radioaktiven Strahlen ein Kapitel gewidmet sein.

I. Die Fundamentaleigenschaften der radioaktiven Körper. Rutherfords Zerfallstheorie.

Das äußere Kennzeichen der radioaktiven Körper ist ihre Fähigkeit charakteristische Strahlen auszusenden. Die Ursache und Energiequelle der Strahlenemission ist nach *Rutherford* der Zerfall und die Umwandlung der Atome. Ein bestimmter Bruchteil der Atome einer radioaktiven Substanz geht danach in Atome einer neuen Substanz mit anderen physikalischen und chemischen Eigenschaften über, welche ihrerseits selbst wieder radioaktiv sein, d. h. sich weiter umwandeln kann.[1] Zum Teil sind diese Umwandlungskörper gasförmig und werden dann als Emanationen bezeichnet.

Der Zerfall einer einheitlichen radioaktiven Substanz geht nach einem Exponentialgesetz vor sich. Wenn also No die Zahl der Atome (oder die Menge radioaktiver Substanz) zur Zeit $t = o$ bedeutet, ist die Zahl N der Atome (die Menge Substanz) zur Zeit $t = t$:

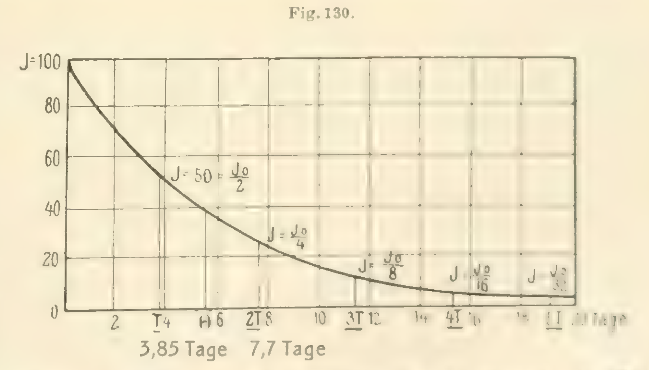
(1) . . . . $N = N_0 \cdot e^{-\lambda t}$.

Da die Aktivität J der Substanz der Zahl N der Atome proportional ist, kann man ebenso auch schreiben:

(1a) . . . . $J = J_0\, e^{-\lambda t}$.

In Fig. 130 ist diese Kurve für den Fall der Radiumemanation dargestellt. λ wird als Zerfallskonstante bezeichnet und gibt den Bruchteil der Substanz an, der in der Zeiteinheit (meist in der Sekunde) zerfällt. Anschaulicher als die Zerfallskonstante, welche meist eine sehr kleine Zahl darstellt, ist die Halbwertszeit oder Periode (gewöhnlich mit T bezeichnet), welche die Zeit angibt, in der die Hälfte der betreffenden Substanz zerfallen ist. T steht zu λ in der einfachen rechnerischen Beziehung, daß

Fig. 130.



(2) . . . . $T = \frac{lg. nat. 2}{\lambda} = \frac{0{\cdot}6931}{\lambda}$

ist.

[1] Bei einigen Körpern gehen radioaktive Prozesse ohne Strahlenemission vor sich

Neben der Halbwertszeit eines radioaktiven Körpers ist noch seine mittlere Lebensdauer Θ von Bedeutung. Da nämlich von einer gewissen Menge radioaktiver Substanz in der Sekunde nur ein bestimmter kleiner Bruchteil zerfällt, so ist die Lebensdauer der einzelnen Atome desselben eine sehr verschiedene. Θ gibt den Mittelwert der Lebensdauer für alle Atome an. Für Θ gilt:

$$(3) \quad \Theta = \frac{T}{0{\cdot}6931} = \frac{1}{\lambda};$$

die eine der drei Größen λ, T und Θ genügt also immer, um die beiden anderen durch Rechnung finden zu können. In Fig. 130 sind die Zeiten Θ, T, 2 T etc. nebst den zugehörigen Aktivitätswerten (die Anfangsaktivität = 100 gesetzt) eingezeichnet.

Die Zerfallskonstante (und folglich auch T und Θ) ist für jeden radioaktiven Körper eine ganz bestimmte charakteristische Größe und wird meistens zur Identifizierung des betreffenden Körpers verwendet. Die Verschiedenheit in der Zerfallsgeschwindigkeit der einzelnen radioaktiven Körper ist außerordentlich groß. Während Uran in zirka 5000 Millionen Jahren, Radium in zirka 1760 Jahren zur Hälfte zerfällt, verliert die Radiumemanation in 3·85 Tagen, die Aktiniumemanation gar in 3·9 Sekunden die Hälfte ihrer Aktivität. Je schneller dabei ein radioaktiver Körper zerfällt, um so größer ist seine spezifische Aktivität; denn ein um so größerer Bruchteil seiner Substanz zerfällt in jeder Sekunde. Das Uran ist ein schwach aktiver Körper, das Radium, da es ungefähr 3 Millionen mal so schnell zerfällt als das Uran, auch 3 Millionen mal so aktiv wie dieses. Je stärker aktiv ein Körper ist, um so kleiner sind andererseits auch die Mengen, in denen er darstellbar ist; während das Uran kiloweise zu kaufen ist, wägt man das Radium nach Milligrammen; die ganz hochaktiven Körper und die Emanationen entziehen sich vollends jeder Wägung und können nur durch ihre radioaktiven Eigenschaften gemessen werden.

Der Zerfall der Atome eines radioaktiven Körpers geht, wie bereits angedeutet, in der Weise vor sich, daß aus dem zerfallenen Atom das Atom eines neuen Körpers wird, der ganz andere Eigenschaften hat als der ursprüngliche. Der neue Körper wiederum hat meistenteils die Eigenschaft, selbst wieder radioaktiv zu sein, d. h. unter Bildung eines weiteren Körpers zu zerfallen. Die Reihe der von einem primären radioaktiven Körper sich ableitenden Körper (auch die Umwandlungsstufen genannt) bezeichnet man als eine radioaktive Familie. Wir kennen bis jetzt vier solche, welche sich von den primären Körpern Uran, Radium, Thorium und Aktinium ableiten; dabei steht die Radiumfamilie in genetischem Zusammenhange mit der Uranfamilie, da erwiesenermaßen das Radium sich aus dem Uran entwickelt. In der folgenden Tabelle ist als Beispiel zunächst die Familie der vom Radium abstammenden Körper mit ihren zugehörigen Halbwertszeiten zusammengestellt. Eine vollständige Tabelle aller bekannten radioaktiven Körper findet sich auf Seite 816.

Tabelle I.

Die Glieder der Radiumfamilie.

	Substanz	Zeit T, in der die Substanz zur Hälfte zerfällt
	Radium	1760 Jahre
	↓	
	Radiumemanation	3·85 Tage
	↓	
sogenannter schnell abklingender aktiver Beschlag des Radiums	Radium A	3·0 Minuten
	↓	
	Radium B	26·7 Minuten
	↓	
	Radium C	19·5 Minuten
	↓	
sogenannter langsam abklingender aktiver Beschlag des Radiums	Radium D	15 Jahre
	↓	
	Radium E	4·8 Tage
	↓	
	Radium F (Polonium)	136 Tage
	↓	
	Endglied vermutlich Blei	∼

Eine besondere theoretische und praktische Bedeutung hat die Erscheinung des sogenannten radioaktiven Gleichgewichtes. Beim Eintritt des radioaktiven Gleichgewichtes sind die einzelnen Glieder einer radioaktiven Familie in Mengen[1]) vorhanden, welche den Halbwertszeiten direkt proportional sind. Die Verhältnisse beim radioaktiven Gleichgewicht lassen sich an der Radiumfamilie leicht erläutern.

Wir sehen an der Spitze der Radiumfamilie das Radium selbst mit einer verhältnismäßig kleinen Zerfallsgeschwindigkeit. Die uns zur Verfügung stehenden Beobachtungszeiten sind gegenüber den 1760 Jahren, in denen erst die Hälfte einer gewissen Radiummenge zerfällt, so klein daß praktisch die Radiummenge und damit die Anzahl Atome, welche in der Zeiteinheit zerfällt, konstant bleibt.

Die Radiumatome, welche zerfallen, bilden sich nun in Emanationsatome um. Haben wir zu einem gewissen Zeitpunkte alle in einem Radiumpräparate vorhandene Emanation z. B. durch Ausglühen entfernt, so werden in dem Maße, in dem die Radiumatome zerfallen, Emanationsatome nachgebildet werden. Es wird sich zunächst eine Anhäufung der Emanations-

[1]) Mengen bedeutet hier Anzahl von Atomen.

atome bemerkbar machen, die aber nicht ins Unbegrenzte wachsen kann, da die Emanation selbst wieder einen Körper darstellt, dessen Atome zerfallen, und zwar außerordentlich viel schneller als die Radiumatome, da die Halbwertszeit der Radiumemanation nur 3·85 Tage beträgt. Der Bruchteil der Emanationsatome, der in der Zeiteinheit zerfällt, ist also ein viel größerer als der Bruchteil, welcher beim Radium zerfällt. Es wird sich daher sehr bald ein Gleichgewichtszustand herausbilden, der dadurch gekennzeichnet ist, daß bei demselben in der Zeiteinheit genau soviel Emanationsatome zerfallen, als nachgebildet werden, also als Radiumatome zerfallen. Ist A_1 eine gewisse Menge Radiumatome, λ_1 die Zerfallskonstante des Radiums, so ist $A_1 \lambda_1$ die Menge Radium, welche in der Zeiteinheit zerfällt. $A_2 \lambda_2$ bezeichnet den entsprechenden Bruchteil, welcher von einer gewissen Emanationsmenge A_2 zerfällt.

Beim radioaktiven Gleichgewicht ist die Anzahl der zerfallenden Radiumatome gleich der Anzahl der zerfallenden Emanationsatome also:

$$(4) \quad \ldots\ldots \quad A_1 \lambda_1 = A_2 \lambda_2 \text{ oder auch } \frac{A_1}{A_2} = \frac{\lambda_2}{\lambda_1} = \frac{T_1}{T_2}.$$

Wenn der zweite Körper sich weiter umwandelt, so gilt noch weiter

$$(4a) \quad A_1 \lambda_1 = A_2 \lambda_2 = A_3 \lambda_3 = \text{usf., daher } A_1 : A_2 : A_3 : A_n = T_1 : T_2 : T_3 : T_n .$$

Beim radioaktiven Gleichgewicht stehen also die Gleichgewichtsmengen im umgekehrten Verhältnis der Zerfallskonstanten oder im direkten Verhältnis der Halbwertszeiten. Von allen Gliedern einer Reihe zerfallen dann in der Zeiteinheit die absolut gleiche Zahl von Atomen.

Je kleiner also die Halbwertszeit eines Gliedes einer radioaktiven Familie ist, in um so geringerer Menge kann es maximal in einer gewissen Menge des betreffenden Stammkörpers vorhanden sein. Bei der Radiumfamilie ist z. B. die Menge Emanation, welche maximal, d. h. bei vollständiger Ausbildung des Gleichgewichtes in einem eingeschmolzenen Präparat bei 1 *g* Radium sich ausbilden kann, gleich 0·6 mm^3.[1])

Je schneller ein radioaktiver Körper zerfällt, um so stärker radioaktiv ist er, da ja ein um so größerer Bruchteil der Atome des Körpers in der Zeiteinheit zerfällt. Da beim radioaktiven Gleichgewicht die am schnellsten zerfallenden Körper in der geringsten Menge vorhanden sind, so treffen wir die am stärksten aktiven Körper in der geringsten Menge an. Auch in den stärksten Präparaten sind diejenigen Körper, welche Halbwertszeiten von Stunden oder Tagen haben, immer in unwägbarer Menge vorhanden. Auch für das Radium mit seiner Halbierungskonstanten von 1760 Jahren ist ja die gebräuchliche Gewichtseinheit das Milligramm.

---

[1]) Eine wichtige Anwendung vom radioaktiven Gleichgewicht wird zur Berechnung der Halbwertszeiten gemacht. Die Halbwertszeit der Emanation ist z. B. leicht direkt zu bestimmen, diejenige des Radiums nicht. Aus dem gemessenen Gleichgewichtsverhältnis Radium-Emanation läßt sich aber nach der obigen Formel die Halbwertszeit des Radiums leicht berechnen.

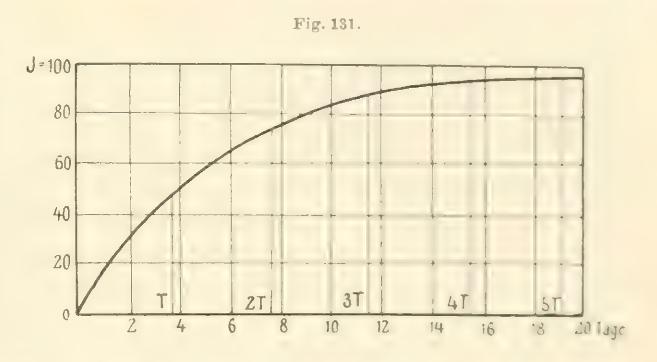
Von praktischem Interesse ist die Zeit, innerhalb deren sich das radioaktive Gleichgewicht einstellt. Am einfachsten liegen die Verhältnisse, wenn nur zwei Körper vorliegen, von denen der erste eine dem zweiten Körper gegenüber große Lebensdauer hat. Dies ist z. B. der Fall beim Radium und der Radiumemanation. Das Radium zerfällt so langsam, daß seine Strahlung praktisch konstant ist. Ist Radium gänzlich von seiner Emanation befreit, so bildet sich die Emanation nach der Formel

$$(5) \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad . \quad J = J_{max} \cdot (1 - e^{-\lambda t}),$$

dabei bedeutet J die Menge Emanation zur Zeit t, J_{max} diejenige, welche sich maximal in dem betreffenden Radiumpräparate ansammeln kann (die Gleichgewichtsmenge) und λ die Zerfallskonstante der Emanation. In graphischer Darstellung repräsentiert sich die Formel in der Fig. 131. Nach zirka 4 Wochen ist, wie man sieht, praktisch der Gleichgewichtszustand erreicht.

Von Bedeutung ist auch die Tatsache —, die sich durch leichte Rechnung aus der Formel (5) ableiten läßt — daß nach der Halbwertszeit T der Emanation, also nach 3·85 Tagen, die Hälfte der Maximalmenge von Emanation sich gebildet hat. Man braucht also, wenn man die Gleichgewichtsmenge bestimmen will, nicht warten, bis sich diese angesammelt hat, sondern kann 3·85 Tage nach der Befreiung des Radiums von der Emanation die gebildete Menge messen und das Resultat mit 2 multiplizieren. Natürlich kann man mit Hilfe der Formel (5) auch von einer anderen Zeit aus die Gleichgewichtsmenge finden. Hiervon wird bei Emanationsmessungen vielfach Gebrauch gemacht.

Fig. 131.



Komplizierter werden die Verhältnisse der Einstellungsgeschwindigkeit des Gleichgewichtes, wenn der zweite radioaktive Körper, der aus dem ersten entsteht, selbst wieder weitere aktive Körper erzeugt. Dies ist ja meistens, so auch bei der Radiumfamilie der Fall. Die Diskussion dieser Fälle siehe bei *Rutherford*[1]) oder *P. Curie*.[2])

In der Radiumfamilie wird die Betrachtung der Verhältnisse dadurch erleichtert, daß die aus der Emanation zunächst entstehenden Körper, das Radium A, B, C, selbst wieder Körper sind, die sehr schnell im Verhältnis zur Radiumemanation zerfallen. Nach einigen Stunden stehen diese schnell zerfallenden Körper mit der Emanation selbst im Gleich-

[1]) ***Rutherford-Aschkinass***, Die Radioaktivität. 6. Kapitel. S. 227 (1907).

[2]) *P. Curie*, Radioaktivität. Deutsche Ausgabe. [illegible] Kapitel. S. [illegible]

gewicht, so daß man dann praktisch nur mit der Zerfalls- oder Bildungsgeschwindigkeit der Emanation selbst zu tun hat.

II. Die Natur der radioaktiven Strahlen.

Alle Versuche mit den Strahlen der radioaktiven Körper werden durch den Umstand kompliziert, daß 3 verschiedene Arten von radioaktiven Strahlen existieren, welche bei den meisten radioaktiven Präparaten gemeinsam auftreten und nur in wenigen Fällen isoliert zu erhalten sind. Das äußerliche Unterscheidungsmerkmal der drei Strahlenarten — der α-, β- und γ-Strahlen — ist ihre Durchdringungsfähigkeit: Die α-Strahlen werden durch ganz dünne Metallfolien von wenigen Hundertsteln Millimeter Dicke (auch durch ein Papierblatt) bereits vollkommen absorbiert, die β-Strahlen gehen durch dünne Metallbleche (Aluminium bis zu einigen Millimetern) hindurch, die γ-Strahlen noch durch zentimeter-, ja dezimeterdicke Bleiblöcke. Der Unterschied liegt aber nicht nur in der Durchdringungsfähigkeit, sondern ist auch in der Natur der Strahlen begründet.

Unsere Anschauungen über die Natur der α- und β-Strahlen können heute als sichergestellt gelten, während über diejenige der γ-Strahlen noch einige Meinungsverschiedenheiten herrschen. Die α- und die β-Strahlen sind korpuskuläre Strahlen, d. h. Strahlen, welche aus diskreten Teilchen bestehen, die mit großer Geschwindigkeit von dem radioaktiven Präparat fortgeschleudert werden.

Diese korpuskuläre Natur der α- und β-Strahlen ist ganz sicher geworden, seitdem mehrere Methoden existieren, die Einzelwirkungen sowohl von α- wie von β-Strahlen direkt zu beobachten und sie zu zählen.[1])

Die α-Strahlen oder wie man jetzt sagen muß, die α-Teilchen bestehen nun aus Atomen, und zwar immer aus Heliumatomen, gleichgültig von welchem radioaktiven Präparat die Strahlen stammen, von welchem Atom also die α-Teilchen beim Zerfall abgestoßen werden.[2]) Diese Tatsache ist natürlich für unsere Kenntnis von dem Aufbau der radioaktiven Stoffe von fundamentaler Bedeutung; sie sagt eben aus, daß das Heliumatom ein Bestandteil, ein Baustein aller derjenigen radioaktiven Atome ist, welche beim Zerfall α-Teilchen aussenden.

Während die von den verschiedenen radioaktiven Körpern stammenden α-Teilchen ihrer Natur nach alle gleich beschaffen sind, ist die Geschwindigkeit, mit der sie von dem einzelnen radioaktiven Körper abgestoßen

[1]) Solche Zählmethoden sind: Für die α-Teilchen die Szintillationsmethode, *Regener,* Verh. d. Deutschen Phys. Ges. Bd. **10**. S. 78 (1908), die elektrische Methode, *Rutherford* und *Geiger,* Proc. Roy. Soc. (A), Vol. **81**. p. 141 u. 162 (1908), die Nebeltröpfchenmethode von *C. T. R. Wilson,* Proc. Roy. Soc. (A). Vol. **85**. p. 285 (1911) und andere mehr; für die β-Teilchen die Methoden von *C. T. R. Wilson* (l. c.) und *Regener,* Verh. d. Deutschen Phys. Ges. Bd. **14**. S. 400 (1912).

[2]) Siehe besonders den direkten Nachweis von *Rutherford* und *Royds,* Phil. Mag. (6). Vol. **17**. p. 281 (1909).

werden, verschieden, und zwar ist sie für den betreffenden Körper eine ganz bestimmte charakteristische Konstante, die ebenso wie die Zerfallskonstante λ zur Identifizierung des betreffenden Körpers dienen kann. Die Geschwindigkeit liegt zwischen 15.000 *km* (α-Strahlen von Uran) und 22.000 *km* (Thorium C). In der Tabelle Seite 816 ist die Geschwindigkeit für die α-Strahlen aller bekannten radioaktiven Körper angegeben. Eine Reihe von radioaktiven Körpern sendet nur α-Strahlen aus. Wenn Versuche mit reinen α-Strahlen angestellt werden sollen, so ist es Notwendigkeit, diese radioaktiven Körper, welche reine α-Strahler sind, zu isolieren. Das ist in vielen Fällen möglich, z. B. mit dem Jonium und Polonium.

Durch den geschoßartigen Charakter der α-Strahlen ist ein eigentümliches Verhalten der α-Strahlen bei der Absorption in gasförmigen und festen Körpern bedingt. Dieses Verhalten ist dadurch charakterisiert, daß α-Strahlen einer einheitlichen Geschwindigkeit (also α-Strahlen, die von einem radioaktiven Körper ausgehen) eine ganz bestimmte Reichweite in jedem gasförmigen und festen Körper haben. Der Vorgang ist also nicht etwa derart, daß homogene α-Strahlen beim Eindringen in einen Körper um so mehr absorbiert werden, je tiefer sie eindringen, sondern sämtliche α-Teilchen durchdringen den Körper bis zu einer bestimmten Tiefe, dann bleiben sie alle auf einmal plötzlich stecken. Diese Reichweite der α-Strahlen ist von der Anfangsgeschwindigkeit abhängig, mit der die α-Strahlteilchen den radioaktiven Körper verlassen und sie ist ebenso wie diese ein Charakteristikum für jeden einheitlichen radioaktiven Körper; sie wird sogar vorzugsweise zur Identifizierung der Körper benutzt, da sie weitaus bequemer als die Geschwindigkeit der α-Strahlen zu messen ist. Meist wird die Reichweite der α-Strahlen in Luft angegeben; sie ist darin z. B. für α-Strahlen von Uran (Geschwindigkeit $v = 1{\cdot}5 \,.\, 10^9$ *cm*) $= 2{\cdot}7$ *cm*, für die schnellsten α-Strahlen von Thor C ($v = 2{\cdot}2 \,.\, 10^9$ *cm*) $= 8{\cdot}6$ *cm* bei 760 *mm* und 18° Celsius.

In der Tabelle Seite 816 sind die Reichweiten aller bekannten α-Strahlen in Luft angegeben. In festen Körpern sind die Reichweiten der α-Strahlen nur in wenigen Fällen direkt bestimmt. So dringen die α-Strahlen von Polonium ($r = 3{\cdot}85$ *cm* in Luft) in Aluminium bis zu 0·023 *mm* hinein[1], diejenigen von Ra C ($r = 7{\cdot}06$ *cm* in Luft) in Aluminium bis zu 0·059 *mm*.[2] Für andere Körper läßt sich (bei gleicher Reichweite α-Strahlen) die Eindringungstiefe in guter Annäherung nach dem Gesetze ausrechnen, daß dieselbe umgekehrt proportional der Dichte der Substanz ist.[3] In einem Körper mit der Dichte 1 (Wasser, organische Weichteile) dringen auch die schnellsten α-Strahlen höchstens 0·1 *mm* tief ein. Mit dem Eindringen der α-Strahlen in feste und gasförmige Körper nimmt ihre Geschwindigkeit ab. Das Vorhandensein einer bestimmten Reichweite bedeutet also, daß

[1] *Aschkinass*, Ann. d. Phys. (4), Bd. 27, S. 379 (1908).
[2] *Rutherford*, Phil. Mag. (6), Vol. 10, p. 163 (1905) und Vol. 12, 134 (1906).
[3] *Bragg* und *Kleemann*, Phil. Mag. (6), Vol. 10, p. 318 (1905).

bei einer bestimmten Minimalgeschwindigkeit die α-Teilchen die Fähigkeit weiteren Vordringens plötzlich verlieren.[1])

Dieser Geschwindigkeitsverlust, den die α-Teilchen beim Durchdringen fester und gasförmiger Körper erleiden, bewirkt auch, daß aus einem radioaktiven Präparat von endlichen Dimensionen nicht mehr homogene α-Strahlen, d. h. Strahlen von gleicher Anfangsgeschwindigkeit austreten, da die aus der Tiefe kommenden Strahlen in dem radioaktiven Körper selbst einen Geschwindigkeitsverlust erleiden, teilweise sogar ganz stecken bleiben. Natürlich wird dann auch die Reichweite solcher Strahlen nicht mehr scharf ausgeprägt sein, da die mit geringerer Geschwindigkeit austretenden Strahlen eine kleinere Reichweite haben. In der Praxis ist es jedoch möglich, eine Reihe von radioaktiven Körpern in so dünner Schicht herzustellen (z. B. die sogenannten aktiven Beschläge und das Polonium), daß eine Absorption und ein Geschwindigkeitsverlust in der radioaktiven Schicht nicht stattfindet, so daß bei ihnen die Reichweite scharf ausgeprägt ist.

Die β-Strahlen sind Teilchen negativer Elektrizität, sogenannte Elektronen, welche mit großer Geschwindigkeit von dem radioaktiven Körper ausgestoßen werden. Sie sind also ihrem Wesen nach gleich den Kathodenstrahlen, welche in einer elektrischen Entladungsröhre bei niederen Drucken auftreten. Ebenso wie bei den Kathodenstrahlen ist ihre Masse sehr vielmal, nämlich ungefähr 1800mal kleiner als die Masse des kleinsten bekannten Atoms, des Wasserstoffatoms, und damit ungefähr 7200mal kleiner als die Masse eines α-Teilchens (Atomgewicht des Heliums = 4). Dabei ist zu bemerken, daß die Masse des Elektrons lediglich aus der Trägheit, nämlich aus dem Widerstand des Elektrons einer Bewegungsänderung gegenüber berechnet ist, nicht aus dem Gewichte desselben. Man hat ferner Grund zu der Annahme, daß diese Trägheitsreaktion des Elektrons rein elektromagnetischer Natur ist, so daß auch die gegenüber einem Wasserstoffatom so kleine Masse des Elektrons nicht Masse im gewöhnlichen Sinne des Wortes, sondern nur Trägheit ist, die der elektrischen Natur des Elektrons zukommt.

Das wesentliche Unterscheidungsmerkmal der β-Strahlen den Kathodenstrahlen gegenüber ist ihre größere Geschwindigkeit. Sie erreicht bei den schnellsten Strahlen sehr nahe die Lichtgeschwindigkeit (300.000 *km/sec*) und wird auch meistens in Bruchteilen der Lichtgeschwindigkeit angegeben. Die am häufigsten vorkommenden Strahlen haben ungefähr $^1/_3$ bis 0·99 Lichtgeschwindigkeit; β-Strahlen noch geringerer Geschwindigkeit treten meist als Sekundärstrahlen auf und werden, wenn sie ganz langsam sind, als δ-Strahlen bezeichnet.

Die Verhältnisse bei der Absorption der β-Strahlen sind grundverschieden von denjenigen bei α-Strahlen. Hat man homogene β-Strahlen,

[1]) Nach neueren Versuchen von *Geiger*, Proc. Roy. Soc. (A). Vol. 83. p. 505 (1910) hat die Minimalgeschwindigkeit keine ganz scharfe Grenze.

d. h. β-Strahlen, welche mit einer bestimmten Anfangsgeschwindigkeit das radioaktive Präparat verlassen[1], so gilt das Gesetz:

$$(6) \quad \ldots\ldots\ldots \quad J = J_0 \, . \, e^{-kd},$$

wo J und J_0 die Intensitäten der Strahlung vor und nach dem Passieren einer Schicht von der Dicke d, k den Absorptionskoeffizient bedeutet.

Dies Gesetz ist dasselbe, welches auch für die Absorption des Lichtes in einem absorbierenden Körper gilt. Es sagt aus, daß die Strahlung beim Passieren einer bestimmten Schichtdicke immer um den gleichen Betrag geschwächt wird. Anschaulicher als der Absorptionskoeffizient k ist die Halbierungsdicke, das ist diejenige Schichtdicke der Substanz, welche die Strahlung auf den halben Betrag schwächt. Sie steht zum Absorptionskoeffizienten k in der Beziehung:

$$(7) \quad \ldots\ldots \quad D = \frac{\log. \text{nat}. 2}{k} = \frac{0{\cdot}693}{k}.$$

Diese Halbierungsdicke ist darum in der Tabelle Seite 816 neben den Absorptionskoeffizienten für die bekannten β-Strahlen angegeben, und zwar meist für Aluminium. Daneben ist auch noch die Geschwindigkeit der Strahlen in Bruchteilen der Lichtgeschwindigkeit angegeben. Die schnellsten Strahlen sind natürlich die, welche am wenigsten absorbiert werden.

In der Praxis werden die Erscheinungen bei der Absorption der β-Strahlen durch mehrere Umstände kompliziert. Erstens kann man nur sehr schwer Präparate herstellen, welche nur eine β-Strahlung bestimmter Geschwindigkeit geben. Die allermeisten Präparate geben ein Gemisch von β-Strahlen verschiedener Geschwindigkeit. Neuere Untersuchungen von *v. Baeyer*, *Hahn* und *Meitner*[2], sowie von *Danysz*[3] haben sogar gezeigt, daß dies in noch weit erheblicherem Maße als früher angenommen der Fall ist. Von der großen Menge β-Strahlen verschiedener Geschwindigkeit, die nach diesen Untersuchungen existieren, ist jedoch nur ein Teil von stärkerer Intensität. Nur diese sind in der Tabelle II aufgenommen. Uran x z. B. hat β-Strahlen von zwei verschiedenen Geschwindigkeiten, welche die Absorptionskoeffizienten 14·4 und 510 haben. Ihnen entsprechen die Halbierungsdicken von 0·048 und 0·00136 *cm* Aluminium. Die β-Strahlung mit dem Absorptionskoeffizienten 510 ist, wie man sieht, sehr leicht absorbierbar.

Bei den Absorptionsmessungen offenbart sich dies dadurch, daß der Absorptionskoeffizient mit wachsender Dicke der absorbierenden Schicht nicht konstant bleibt, sondern mit zunehmender Schichtdicke abnimmt. Läßt man die Schichtdicke allmählich wachsen, so werden nämlich zunächst die stark absorbierbaren Strahlen geschwächt, während die durchdringungsfähigeren noch nicht merklich absorbiert werden. Es tritt

---

[1]) Also z. B. Strahlen, welche aus einer so dünnen Schicht kommen, daß in derselben selbst keine Absorption stattfindet.

[2]) *v. Baeyer*, *Hahn* und *Meitner*, Physik. Zeitschr. Bd. **12**, S. 273, 378, 1099 (1911).

[3]) *Danysz*, Le Radium. T. 9, p. 1 (1912).

dann angenähert auch der Absorptionskoeffizient der ersten Strahlen in Erscheinung. Sind die stark absorbierbaren Strahlen mit zunehmender Schichtdicke merklich absorbiert, so tritt merklich die zweite durchdringendere Strahlengattung in Erscheinung usw. Natürlich tritt ein scharfer Unterschied nur auf, wenn die verschiedenen Strahlen sich in ihrem Durchdringungsvermögen stark unterscheiden, im anderen Falle wird der Übergang ein allmählicher sein.

Für die Praxis führt das zu der Konsequenz, daß man durch absorbierende Metallschichten die weniger durchdringenden Strahlen zurückhalten kann. Meist geschieht dies durch Aluminium- oder dünne Silberbleche. Die Angabe der benutzten Dicke solcher Filter ist neben derjenigen der Stärke des benutzten Präparates natürlich unerläßlich.

Ein zweiter Umstand, der den Durchgang der β-Strahlen durch feste Körper kompliziert, tritt in der Streuung auf, welche die β-Strahlen sowohl in festen Körpern als auch in Gasen erfahren. Diese Streuung bewirkt, daß die Bahn der β-Strahlen nicht wie bei den α-Strahlen eine gerade ist[1], sondern z. B. ein schmales Bündel von β-Strahlen nach dem Durchgang durch eine Metallplatte, in der es teilweise absorbiert wird, ein Bündel von Strahlen ist, welches nach allen Richtungen auseinandergeht. Ähnlich wie die Streuung wirkt die Sekundärstrahlung, welche beim Auftreffen der β-Strahlen auf feste Körper entsteht, und welche selbst wieder den Charakter einer weichen β-Strahlung hat. Durch dünne Aluminiumfolien oder Papierblätter lassen sich diese oft schädlichen Sekundärstrahlen zurückhalten.

Die von den radioaktiven Körpern ausgehenden γ-Strahlen sind den Röntgenstrahlen einer elektrischen Entladungsröhre analog, sie sind nur, wie bereits erwähnt, sehr viel durchdringungsfähiger. Die γ-Strahlen der radioaktiven Präparate sind ebenso wie die β-Strahlen nicht homogen, d. h. von einheitlichem Durchdringungsvermögen. In erster Annäherung gilt für sie wie für die β-Strahlen das Exponentialgesetz $J = J_0 \cdot e^{-kd}$.

Die Absorptionskoeffizienten k und die Halbierungsdicken d sind für die bekannten γ-Strahlen in der Tabelle II, Seite 816 angegeben. Die γ-Strahlen erzeugen sowohl in festen Körpern wie in Gasen intensive Sekundärstrahlen, welche den Charakter von β-Strahlen haben.

Über die Natur der γ-Strahlen steht experimentell fest, daß sie nicht wie die α- und β-Strahlen elektrische Ladungen mit sich führen, sondern ungeladen sind. Im übrigen ist diejenige Theorie über die γ-Strahlen am meisten anerkannt, welche dieselben als Ätherimpulse von sehr kurzer Impulsbreite annimmt. Sie sind danach also eine Ätherschwingung, aber keine regelmäßige periodische, sondern eine Art von Zuckung des Äthers. Sie verhalten sich zu den Lichtschwingungen, um einen Vergleich zu wählen, ungefähr so, wie sich ein plötzlicher Knall in hoher Tonlage zu

[1]) Die α-Strahlen erfahren zwar auch eine Streuung, doch ist dieselbe so minimal, daß sie praktisch fast immer zu vernachlässigen ist.

einem tiefen musikalischen Ton verhält. Von einigen englischen Autoren wird eine andere Theorie der γ-Strahlen verfochten.

III. Die Wirkungen der radioaktiven Strahlen.

Alle drei Arten der radioaktiven Strahlen üben eine Reihe von Wirkungen aus, welche im Folgenden beschrieben werden sollen, soweit sie für das praktische Arbeiten in der Biologie von Interesse sind.

Sowohl α- wie β- und γ-Strahlen rufen photographische Wirkungen hervor, welche gelegentlich zur Konstatierung der Aktivität eines Körpers dienen können.[1] Relativ am stärksten wirken die β-Strahlen. Die α-Strahlen haben zwar eine sehr viel größere Energie als die β-Strahlen, sie dringen aber nur wenige Hundertstel Millimeter in die photographische Schicht ein. Ganz schnelle β-Strahlen sowie γ-Strahlen stehen wieder ungünstig da, da sie in der photographischen Schicht zu wenig absorbiert werden.

Zu der Herstellung von Radiographien von der Art der Röntgenbilder eignen sich die Radiumstrahlen nicht besonders. Verwendet man dazu die β-Strahlen, so erhält man keine guten Kontraste zwischen Fleisch und Knochen, da die β-Strahlen bereits durch die Weichteile absorbiert werden. Blendet man aber die β-Strahlen ab, so muß man erstens auch mit starken Präparaten sehr lange exponieren und erhält ferner so harte Strahlen, daß auch die Knochen keinen deutlichen Schatten geben.

Mit einigermaßen starken radioaktiven Präparaten läßt sich leicht die fluoreszenzerregende Wirkung der Strahlen beobachten. Für α-Strahlen eignet sich am besten ein Fluoreszenzschirm aus künstlicher Zinkblende (ZnS), während für β- und γ-Strahlen Baryum-Platincyanür am empfindlichsten ist, dieselbe Substanz, aus der auch die Fluoreszenzschirme für Röntgenstrahlen bestehen. Einen solchen Fluoreszenzschirm, am besten aus Zinkblende, muß man immer zur Hand haben, wenn man starke Präparate aus einer Kapsel entfernen oder umfüllen muß. Man führt dann alle Operationen auf und über dem Fluoreszenzschirm aus; verliert man dann auch nur das kleinste Körnchen, so findet man es im verdunkelten Zimmer auf dem Fluoreszenzschirm stets wieder.

Auch das Eigenleuchten stärkerer radioaktiver Substanzen ist als eine Fluoreszenz aufzufassen. Es fluoresziert dann die radioaktive Substanz unter der Wirkung ihrer eigenen Strahlen. Die Stärke dieses Leuchtens ist indessen kein Maß für die Stärke des Präparates. Es ist in hohem Maße von der inaktiven Beimengung und der chemischen Konstitution, in welcher sich die radioaktive Substanz befindet, abhängig. Ganz reine Präparate leuchten daher unter Umständen weniger als passend verunreinigte.

Für die Biochemie wichtig, leider aber noch nicht gründlich erforscht sind die chemischen Wirkungen der radioaktiven Strahlen.

---

[1] Die Entdeckung der Radioaktivität geschah am Uran durch die photographische Wirkung der Strahlen. *Becquerel* (1897).

Am bekanntesten ist die Wasserzersetzung, welche größtenteils von den α-Strahlen herrührt. Jede starke Radiumlösung entwickelt ständig eine merkliche Menge von Knallgas, und zwar nach *Debierne*[1]) pro Gramm Radium und Stunde 0·54 cm^3. Man muß auf diese Gasentwicklung Rücksicht nehmen, wenn man Radiumpräparate in ein Glasröhrchen einschmilzt. Das Präparat muß in diesem Falle absolut trocken sein. Zum Ausgleich von Ladungen muß ferner immer ein Platindraht eingeschmolzen sein.

Gleichfalls den α-Strahlen zuzuschreiben ist die Ozonbildung, welche man leicht am Geruch erkennt, wenn man eingeschlossene starke Präparate öffnet.

β-Strahlen wandeln weißen Phosphor in roten um[2]), fällen Kalomel aus einer Lösung von Quecksilberchlorid in Gegenwart von Oxalsäure, bilden Jod in einer Lösung von Jodoform in Chloroform[3]), zersetzen Jodsäure und Salpetersäure[4]) u. a. m.

Mit Radiumemanation lassen sich eine Reihe von chemischen Wirkungen hervorrufen[5]), wobei freilich die Wirkungen der α-, β- und γ-Strahlen nicht voneinander getrennt sind; den Hauptanteil werden wegen ihrer größten Energie jedenfalls die α-Strahlen haben. So wird Kohlensäure in Kohlenstoff, Sauerstoff und Kohlenoxyd, reines Kohlenoxyd hingegen wieder in Kohlenstoff und Sauerstoff unter gleichzeitiger Entstehung von Kohlendioxyd zerlegt. Umkehrbar sind ferner die Zerlegungen von Salzsäure und Ammoniak.

Eine Reihe von anorganischen und organischen Körpern in ihrer Beeinflußbarkeit durch Radiumstrahlen hat kürzlich *Kailan* untersucht.[6])

Alle radioaktiven Strahlen erzeugen bei der Absorption in festen Körpern Wärme. Diese Wärmeentwicklung ist theoretisch wichtig, da sie das beste Maß für die Energie der Strahlen ist. Praktisch ist sie wegen ihrer Kleinheit nicht von Bedeutung.[7])

Am empfindlichsten und am leichtesten nachzuweisen ist die elektrische Wirkung der radioaktiven Strahlen. Durch diese Wirkung wird auch gewöhnlich die Intensität der Strahlung und damit die Aktivität der radioaktiven Präparate gemessen.

Die elektrische Wirkung der Strahlen besteht in einer „Ionisierung" des von den Strahlen getroffenen Gases, d. i. in einer Bildung von elektrisch geladenen Teilchen aus den neutralen Molekülen des Gases. Sind diese Ionen sich selbst überlassen, so geht die Ionisation allmählich (in staubfreien Gasen in spätestens einigen Sekunden) wieder verloren, indem

[1]) *Debierne*, Compt. rend. T. **148**. p. 703 (1909).

[2]) *Becquerel*, Compt. rend. T. **133**. p. 708 (1901).

[3]) *Hardy* and *Wilcock*, Proc. Roy. Soc. Vol. **72**. p. 200 (1903).

[4]) *Berthelot*, Compt. rend. T. **133**. p. 659 (1901).

[5]) *Ramsay* and *Cameron*, Proc. Chem. Soc. (1907).

[6]) *Kailan*, Sitzungsber. d. Wiener Akademie, mathem.-naturw. Klasse. Bd. **71**. Abt. IIa. Juli 1912.

[7]) 1 *g* Radium entwickelt in 1 Stunde 135 *g* Kalorien.

die positiven und negativen Ionen sich gegenseitig neutralisieren.[1] Unterliegen aber die Ionen elektrischen Kräften, befindet sich also z. B. das ionisierte Gas in dem elektrischen Felde eines Elektroskopes oder zwischen den Platten eines Kondensators, so bewegen sich die Ionen mit einer Geschwindigkeit, welche proportional der elektrischen Kraft, also der Feldstärke des Kondensators ist. Indem die Ionen, den elektrischen Kräften folgend, an die Platten des Kondensators gelangen und dort ihre Ladung abgeben, verursachen sie einen von bzw. zu der betreffenden Kondensatorplatte fließenden Strom. In Fig. 132 ist dies schematisch dargestellt. Wirkt die ionisierende Ursache dauernd, wird also z. B. der Luftraum in dem Kondensator durch radioaktive Strahlen dauernd ionisiert, so ist der durch die Bewegung der Ionen entstehende Strom natürlich von konstanter Stärke und kann durch

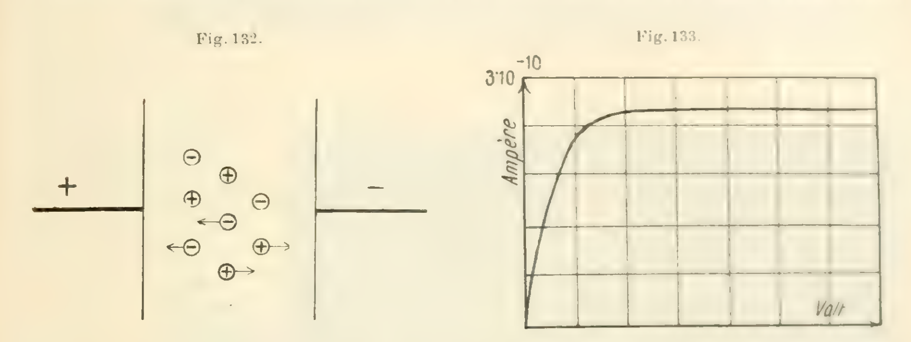


Fig. 132. Fig. 133.

ein Elektrometer, bzw. durch ein Galvanometer gemessen werden. Die Methoden hierfür sind im folgenden Kapitel auseinandergesetzt.

Hier muß zunächst noch ein eigentümliches Verhalten der Ionisationsströme bei zunehmender Feldstärke des Kondensators, in dem der Ionenstrom gemessen wird, erwähnt werden. Dieses Verhalten ist in Fig. 133 schematisch dargestellt.[2] Als die Ordinate ist die Größe des Stromes aufgetragen, als Abszisse die Feldstärke des Kondensators, welche ceteris paribus der zwischen den Kondensatorplatten liegenden Spannung proportional ist. Wie man sieht, findet anfänglich mit zunehmender Spannung ein Ansteigen des Stromes statt, welches im allerersten Teile der Kurve sogar linear ist. Bei höheren Feldstärken hört die Zunahme des Stromes mit steigender Spannung auf, bis schließlich der Strom einen Maximalwert, den Wert des sogenannten Sättigungsstromes erreicht, auf den eine weitere Zunahme der Spannung ohne Einfluß ist.[3] Dieses Verhalten der Stromspannungskurve, welches jedes ionisierte Gas zeigt, läßt sich aus den

[1]) Zum Teil geschieht dies auch durch Diffusion der Ionen.

[2]) Aufnahme der Ionisation eines Poloniumpräparates.

[3]) Bei sehr hohen Feldstärken tritt ein erneutes Anwachsen des Stromes auf, das durch Selbstionisierung des Gases durch den sogenannten Ionenstoß verursacht ist und der Vorläufer der Funkenentladung ist.

Eigenschaften der Gasionen zwanglos herleiten. Ist nämlich die Feldstärke klein, so ist auch die Geschwindigkeit, mit der sich die Ionen bewegen, gering und es wird verhältnismäßig lange dauern, bis die Ionen an die Platten des Kondensators gelangen und dort ihre Ladungen abgeben. Dadurch haben aber die Ionen verhältnismäßig lange Gelegenheit, sich durch Wiedervereinigung gegenseitig zu neutralisieren. Es wird also nur ein Bruchteil der durch die Strahlen gebildeten Ionen an die Platten gelangen und dort ihre Ladung abgeben. Je größer nun die Feldstärke wird, um so schneller wird die Bewegung der Ionen, um so kleiner auch die Gelegenheit zur Wiedervereinigung. Der Sättigungsstrom wird schließlich dann erreicht sein, wenn infolge der hohen Feldstärke die Ionen so schnell an die Platten geschafft werden, daß durch Wiedervereinigung praktisch keine Ionen mehr verloren gehen. Durch den Sättigungsstrom wird also die Anzahl der durch die Strahlen gebildeten Ionen gemessen. Die Stärke der Ionisation bildet wiederum das Maß für die Intensität der Strahlen und damit auch für die Aktivität des emittierenden Körpers. Hierin liegt die Wichtigkeit aller Sättigungsstrommessungen. Aus dem Sättigungsstrom läßt sich leicht die Anzahl der in der Sekunde gebildeten Ionen berechnen, wenn der in elektrostatischen Einheiten gemessene Strom durch die Ladung eines Iones, also durch $4{\cdot}78 . 10^{-10}$[1]) elektrostatische Einheiten dividiert und ferner die Größe des ionisierten Volumens in Rechnung gezogen wird.

Fig. 134.

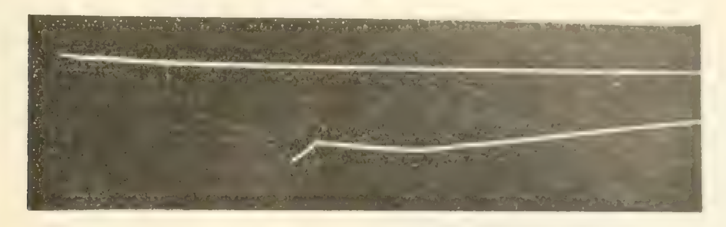


Eine merkwürdige Eigenschaft der Ionen sei noch erwähnt, weil sie in neuester Zeit dazu benutzt worden ist, die Bildung der Ionen durch die Wirkung der Strahlen direkt photographisch sichtbar zu machen. Es ist die Eigenschaft der Ionen, in Luft, die mit Wasserdampf übersättigt ist, Kondensationskerne für die Wassertröpfchen zu bilden. Macht man unmittelbar, nachdem die Ionen und die Wassertröpfchen durch radioaktive Strahlen gebildet sind, durch einen elektrischen Funken eine Aufnahme, so sieht man die Nebeltröpfchen längs des Schußkanales der

[1]) Genauester Wert von *R. A. Millikan.*

Strahlen. In Fig. 134—138 sind solche Aufnahmen von *C. T. R. Wilson* wiedergegeben. Sie geben uns einen direkten Einblick in den ganzen Mechanismus der Strahlen und der Ionenbildung seitens der Strahlen und gehören zu den schönsten Erfolgen, die uns das Gebiet der Radioaktivität

Fig. 135.



gebracht hat. Fig. 134 stellt die Wirkung der von einem Radiumpräparat ausgehenden α-Strahlen dar (siehe voriges Kapitel): die Ionen und die aus ihnen sich bildenden Wassertröpfchen sind längs der fast geraden Geschoßbahn angeordnet. Ganz am Ende haben die Bahnen der α-Teilchen einen

Fig. 136.



kleinen Knick (siehe die Fig. 135, welche eine Vergrößerung der Bahn eines α-Strahles darstellt), wodurch die Natur der geringen Streuung, die die α-Strahlen erfahren, ad oculos demonstriert wird. Fig. 136 zeigt in gleicher Weise die α-Strahlen, welche von einer minimalen Menge Radiumemanation ausgesandt werden. Während in Fig. 134 die Strahlen von dem fast punktförmigen Präparat ausgehen, gehen sie bei der gasförmigen

Emanation (Fig. 136) an beliebiger Stelle des Raumes, wo gerade ein Emanationsatom zerfällt, nach beliebiger Richtung aus. Fig. 137 zeigt einen β-Strahl. Die Bahn desselben ist stark gekrümmt, da die β-Strahlen stark gestreut werden. Die Wassertröpfchen längs der Bahn sind ferner viel dünner gesät als bei den α-Strahlen, da das β-Teilchen auf 1 *cm* seines Weges viel weniger Ionen (einige 100mal weniger) bildet als das α-Teilchen. Fig. 138 zeigt die Ionisation, die ein Röntgenstrahl hervorruft (in Ermangelung einer Photographie mit γ-Strahlen, wo die Verhältnisse sicher die gleichen sind). Der Röntgenstrahl erzeugt primär gar keine Ionen, sondern es werden erst Sekundärstrahlen, also weiche β-Strahlen gebildet, welche dann erst längs ihrer Flugbahn Ionen erzeugen. Die Flugbahnen dieser Sekundärstrahlen repräsentieren sich auf der Photographie sehr deutlich als sehr stark gekrümmte (die langsamen Strahlen erleiden ja eine starke Streuung) Linien (Länge in Wirklichkeit vom Anfang bis zum Ende ca. 20 *mm*).

Fig. 137.



Fig. 138.



Hierdurch wird sehr deutlich die wichtige Tatsache illustriert, daß die ionisierende (und wohl auch jede andere) Wirkung der Röntgenstrahlen (γ-Strahlen) auf dem Umwege durch die Sekundärstrahlen erfolgt.

IV. Meßmethoden.

Die Messung der Intensität der radioaktiven Strahlen geschieht fast ausschließlich durch die Messung der Ionisation, welche die Strahlen her-

vorbringen. Die Messung der Ionisation wiederum läuft auf eine Strommessung hinaus (siehe Seite 801). Es ist die Kleinheit des zu messenden Stromes, welche hierbei die Hauptschwierigkeit bildet. Nur in seltenen Fällen, nämlich bei der Messung starker α-Strahlen-Ionisation, ist ein Galvanometer empfindlich genug. Als solches dient dann am besten ein *Deprez-d'Arsonval*-Galvanometer von 10.000 Ohm Widerstand von *Siemens & Halske*. Sonst ist man auf die elektrometrische Methode angewiesen. Dieselbe kann in zweierlei Form gebraucht werden. Entweder beobachtet man den Abfall der Spannung V eines Elektrometers (Elektroskopes) innerhalb einer bestimmten Zeit t in Sekunden; der Strom i berechnet sich dann nach der Formel

$$(8) \quad \ldots\ldots\ldots\ldots \quad i = \frac{C \cdot (V_2 - V_1)}{t},$$

wo C die Kapazität der Anordnung bedeutet, oder man mißt die Aufladung, die das Elektrometer durch den zu messenden Strom erfährt. Die Formel zur Berechnung des Stromes ist dieselbe.

Soll der Strom in Ampere ausgerechnet werden, so ist die Kapazität in Farad (Mikrofarad = 1 Milliontel Farad), die Spannung in Volt anzusetzen. Die Ströme, die bei radioaktiven Messungen vorkommen, sind immer ein sehr kleiner Bruchteil eines Ampere in den Grenzen von 1 Milliontel (10^{-6}) bis 1 Billiontel (10^{-12}) Ampere. Meist wird daher der Strom bei radioaktiven Messungen in elektrostatischen Einheiten angegeben. Man erhält dann Zahlen, welche $3 \cdot 10^{10}$ mal größer als die in Ampere angegebenen, meist aber immer noch klein sind. Um den Strom in elektrostatischen Einheiten zu bekommen, muß die Kapazität elektrostatisch, d. h. in Zentimeter, die Spannung auch in elektrostatischen Einheiten angegeben sein. Die Eichung von Elektrometern ist nun aus praktischen Gründen immer in Volt angegeben. Um die Eichung in elektrostatischen Spannungseinheiten zu bekommen, sind die Zahlen in Volt durch 300 zu dividieren, da 300 Volt = 1 elektrostatische Spannungseinheit ist.

Der in einem bestimmten Volumen gemessene Ionisations-Sättigungsstrom dient häufig als Einheit für die Stärke einer Strahlung bzw. eines Präparates. Mit elektrostatischen Stromeinheiten, die, um handliche Zahlen zu erhalten, mit 1000 multipliziert sind, rechnet z. B. die Mache-Einheit, welche insbesondere bei Emanationsbestimmungen Verwendung findet. Näheres darüber siehe unten, Seite 829. Ganz und gar keinen Sinn hat aber die bloße Angabe des Spannungsabfalls, den das strommessende Elektrometer in der Stunde erfährt, eine Angabe, die sich in älteren radioaktiven Arbeiten ziemlich häufig findet. Denn ohne die Angabe der Kapazität C in der Formel 8 bleibt der Strom i unbestimmt.

Bei der Messung schwacher Ionisationsströme begegnet man der Komplikation, daß die Luft auch bei Abwesenheit künstlicher radioaktiver Substanzen eine schwache Leitfähigkeit besitzt. Wenn man nach der Methode des Spannungsabfalls beobachtet, muß man stets dieses „normale“ oder „natürliche“ Leitvermögen der Luft berücksichtigen. Es geschieht

dies dadurch, daß man den Spannungsabfall des Elektroskopes beobachtet, wenn die zu messende Substanz entfernt ist. Dieser Spannungsabfall wird (mit Hilfe der Eichtabelle des Elektroskopes in Volt ausgedrückt) gewöhnlich auf 1 Stunde umgerechnet und dieser sogenannte Normalverlust bei der eigentlichen Messung, die gleichfalls auf 1 Stunde umgerechnet ist, abgezogen. Dann erst wird nach Formel (8) der eigentliche Strom ausgerechnet.

Die natürliche Leitfähigkeit der Atmosphäre ist, wie die neuere Forschung gelehrt hat, durch radioaktive Substanzen verursacht, welche sich in der Erde und der Atmosphäre in sehr geringer Menge befinden. In einem Laboratorium, in welchem mit radioaktiven Substanzen gearbeitet wird, kann durch Verschleppung derselben (insbesonders durch die gasförmigen Emanationen sowie durch radioaktiven Staub) die Leitfähigkeit der Luft leicht eine solche Höhe erreichen, daß jedes Arbeiten mit Elektroskopen sehr erschwert wird. Am besten bringt man in die Meßräume nur radioaktive Präparate, welche luftdicht verschlossen sind. Räume, in denen mit Emanation so gearbeitet wird, daß dieselbe möglicherweise entweichen kann, sollen so ventiliert sein, daß die emanationshaltige Luft nicht in das übrige Laboratorium verschleppt wird. Apparate, welche durch Berührung mit Emanation aktiv geworden sind (was man an dem zu hohen Normalverlust, den sie geben, erkennt), kann man am leichtesten dadurch wieder gebrauchsfähig machen, daß man sie mit verdünnter Salzsäure abwäscht. Die Salzsäure ätzt zwar die oberflächliche Metallschicht, zugleich aber auch den störenden aktiven Beschlag fort.

Die vollständige Apparatur zur Messung der durch die radioaktiven Strahlen erzeugten Ionisation besteht aus zwei Hauptteilen: aus der Ionisationskammer und dem zur Strommessung dienenden Elektrometer.

Ionisationskammern. Sie haben den Zweck, das Volumen der durch die Strahlen ionisierten Luft meßbar zu begrenzen und in der Kammer ein elektrisches Feld zu erzeugen, welches stark genug ist, den Sättigungsstrom der zu messenden Ionisation hervorzubringen. Die Ionisationskammer stellt also einen elektrischen Kondensator dar und wird auch oft als solcher bezeichnet.

Geschieht die Strommessung durch die Beobachtung des Spannungsabfalls des Elektrometers, so bildet die Spannung des Elektrometers gleichzeitig die Spannung zur Erzeugung des Feldes in der Ionisationskammer. Diese Anordnung ist schematisch in Fig. 139 dargestellt. E ist das Elektrometer, K die Ionisationskammer, auf das Elektrometer aufgesetzt gedacht. Wird nach der Aufladmethode beobachtet, so ist zur Herstellung der Kondensatorspannung eine besondere Spannungsquelle nötig. Diese Anordnung ist in Fig. 140 schematisch gezeichnet. B ist die Hochspannungsbatterie[1], K die Ionisierungskammer, E das Elektrometer, als Quadrantelektrometer schematisch gezeichnet, wie es für diese Methode üblich ist. Diese Methode hat vor der erstgenannten den großen Vorteil, daß man durch Variieren

[1]) Sehr geeignet für radioaktive Messungen sind die Batterien von *Klingelfuß*, Basel.

der Spannung der Batterie B die Sättigungsstromkurve verfolgen, also das Vorhandensein der Sättigung feststellen kann. Der erforderliche Aufwand an Apparaten ist freilich ein viel größerer.[1])

Je nach der Art der zu messenden Strahlen ist die Form der Ionisationskammer verschieden.

Für α-Strahlen ist am besten ein Plattenkondensator, da ein solcher am leichtesten Sättigungsstrom gibt.[2])

Eine einfache Form desselben ist in Fig. 141 dargestellt.[3]) Auf den Boden der Messingbüchse A kommt der die α-Strahlen emittierende Körper

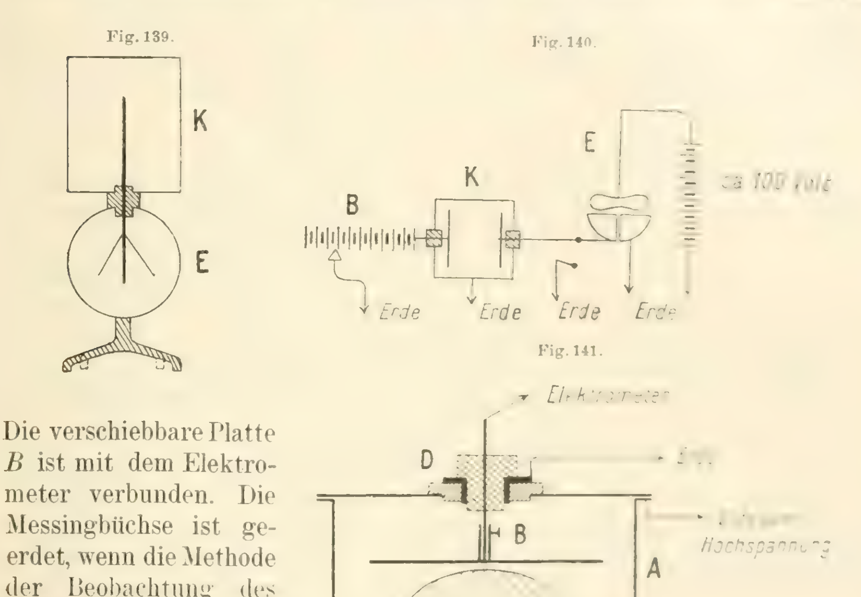


Fig. 139. Fig. 140. Fig. 141.

Die verschiebbare Platte B ist mit dem Elektrometer verbunden. Die Messingbüchse ist geerdet, wenn die Methode der Beobachtung des Spannungsabfalls zur Anwendung kommt. Wird die Auflademethode gebraucht, so wird die Büchse A mit der Hochspannung verbunden (sie steht deshalb auf den Hartgummiklötzen CC). Die Isolation D muß dann doppelt sein: sie besteht aus einem in den Büchsendeckel eingesetzten Hartgummistück, in welchen ein mit der Erde zu verbindender Messingring eingesetzt ist (ein sogenannter Schutzring), der die eigentliche Isolation aus Bernstein trägt. Dadurch wird ein Überkriechen der Elektrizität von dem geladenen Gehäuse über die Isolation nach der inneren Elektrode vermieden.[4])

[1]) Dieselbe Anordnung ist auch für eine galvanometrische Strommessung nötig (für sehr starke Ströme). An die Stelle des Elektrometers tritt dann ein Galvanometer.

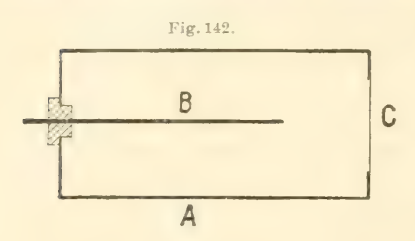
[2]) *E. Regener*, Verhandl. d. Deutschen Phys. Ges. Bd. 13, S. [illegible] (1911).

[3]), [4]) Von *Spindler* und *Hoyer*, Göttingen.

Die durch α-Strahlen hervorgerufene Ionisation ist auf ein bestimmtes Luftvolumen begrenzt, das durch die Reichweite der betreffenden α-Strahlen gegeben ist. Will man die gesamte von einem Präparat erzeugte α-Strahlen-Ionisation messen[1], so muß man mit der zweiten Kondensatorplatte außerhalb des ionisierten Luftraumes bleiben (siehe Fig. 141, wo der ionisierte Luftraum schraffiert gezeichnet ist). Bei einigermaßen starken Präparaten sind hierbei ziemlich hohe Spannungen zur genauen Erreichung des Sättigungsstromes nötig[2] (zirka 1000 Volt und mehr), man kann darum mit der Methode des Ladungsabfalls schlecht arbeiten, da die Elektroskope meist nur auf 200—300 Volt geladen werden. In diesem Falle kann man jedoch Sättigungsstrom erreichen, wenn man auf 1—1·5 *cm* Plattenabstand heruntergeht. Man kann dann allerdings nicht mehr die gesamte Ionisation der α-Strahlen messen, wohl aber Vergleichsmessungen mit anderen Präparaten derselben Substanz ausführen.

Zur Messung der β- und γ-Strahlen-Ionisation benutzt man meist einen Zylinderkondensator. Er besteht (Fig. 142) einfach aus einem zylindrischen Gefäß *A*, in welchem eine stabförmige Elektrode *B* eingeführt ist. Die Isolation des Stabes muß mit einem Schutzring (siehe Fig. 141) versehen sein, wenn man nach der Auflademethode arbeitet.

Fig. 142.



Sollen β-Strahlen gemessen werden, so bekommt der Boden *C* des Zylinderkondensators (Fig. 142) ein Loch, das mit Stanniol oder dünner Aluminiumfolie beklebt ist und durch welches die zu messenden β-Strahlen eintreten. Für γ-Strahlenmessungen wird das ganze Gefäß mit 2 *mm* starkem Bleiblech umgeben. Sowohl bei β-Strahlen wie bei γ-Strahlen kann man niemals die ganze von den Strahlen erzeugte Ionisation messen, sondern man muß sich immer damit begnügen, dieselbe mit derjenigen eines Standardpräparates, das in der gleichen Entfernung vom Kondensator aufgestellt wird, zu vergleichen.

Zur Messung der durch eine gewisse Menge Emanation hervorgerufenen Ionisation dient auch der Zylinderkondensator. Er wird dann meist größer, 2—15 *l* fassend, angewendet.

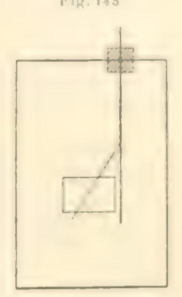
Elektrometer. Elektrometer und Elektroskope für Ionisationsmessungen gibt es heute eine sehr große Zahl, von denen hier nur einige beschrieben werden können. Will man die einfachere Methode der Beobachtung des Spannungsabfalls zur Ionisationsmessung benutzen, so genügt

[1] Da die Hälfte der α-Strahlen auf die Unterlage des Präparates ausgeschleudert und dort absorbiert wird, so gelangt praktisch immer nur die Hälfte der Strahlen zur Messung, und diese auch nur dann, wenn das α-Strahlenpräparat in so dünner Schicht vorliegt, daß in der Schicht selbst keine α-Strahlen absorbiert werden. Dies ist z. B. bei Poloniumpräparaten und aktiven Beschlägen der Fall.

[2] *E. Regener*, l. c.

jedes Elektroskop, dessen Isolation aus poliertem Bernstein ist und das eine genügend genaue Skala hat. Ist eine solche an dem Instrument nicht vorhanden, so kann man ein Ablesemikroskop mit einer Okularmikrometerskala benutzen, muß dasselbe aber fest mit dem Elektrometer verbinden, damit die relative Stellung der Skala gegen das Elektroskopblättchen immer dieselbe bleibt. Auch läßt sich ein solches Elektroskop leicht herstellen, wenn man die Mühe nicht scheut, das Elektroskopblättchen als zirka 3 *mm* breiten, 4—5 *cm* langen Streifen aus Blattgold oder Blattaluminium mit einem Rasiermesser (zwischen dem das Metall einhüllenden Papier) auszuschneiden, wozu allerdings einige Übung gehört. Das Blättchen wird dann mit seinem oberen Ende an einen Messingstreifen angeklebt und mit einem polierten Bernsteinstück in einen kleinen viereckigen Messingkasten eingekittet (Fig. 143). Zwei Fenster vorn und hinten gestatten die Beobachtung und Beleuchtung des Blättchens. Wird das Elektroskop mit einer Ionisationskammer verbunden, so muß der verbindende Draht in einer mit dem Elektroskopgehäuse verbundenen Messingröhre geführt werden, damit Störungen durch Influenz von außen ferngehalten werden. An einer Stelle muß die Röhre ein Loch haben, damit das Elektroskop geladen werden kann. Dies geschieht mit einem an einer Siegellackstange befestigten Drahte, mit dessen einem Ende man den Zuleitungsdraht zum Elektroskop berührt und an dessen anderem Ende man eine geriebene Siegellackstange oder eine Trockensäule abstreicht. Will man γ-Strahlen messen, so kann man, wie das meist geschieht, das Elektroskop selbst als Ionisationskammer benutzten, indem das geladene Blättchen das Feld der Ionisationskammer (in diesem Falle also des Elektrometergehäuses) selbst erzeugt. Das ganze Elektroskop ist dann mit 2 *mm* dickem Bleiblech, mit zwei Ausschnitten für die Fenster zu umgeben.

Fig. 143



Von käuflichen Elektrometern sei dasjenige von *Elster* und *Geitel* sowie dasjenige von *Wulf* erwähnt. Das *Elster*- und *Geitel*sche Elektroskop (Fig. 144)[1]) besitzt zwei Aluminiumblättchen *b b*, welche beim Transport durch gegengeschobene Schutzbacken *P P* gesichert werden. Abgelesen werden immer die Stellungen beider Blättchen, weil man dann von einer genau senkrechten Stellung des Instrumentes unabhang ist. Dadurch, daß das von der versilberten Vorderwand *a* des Elektroskopes reflektierte Bild der Skala *M* beobachtet wird, wird eine parallaxenfreie Ablesung erreicht. Die Skala muß ebensoweit von der Vorderwand abstehen, als die Blättchen dahinterliegen.

Das *Wulf*sche Elektrometer[2]) ist ein vorzügliches Instrument, welches schnelle Einstellung, genaue Ablesung mit Unempfindlichkeit gegen Transport

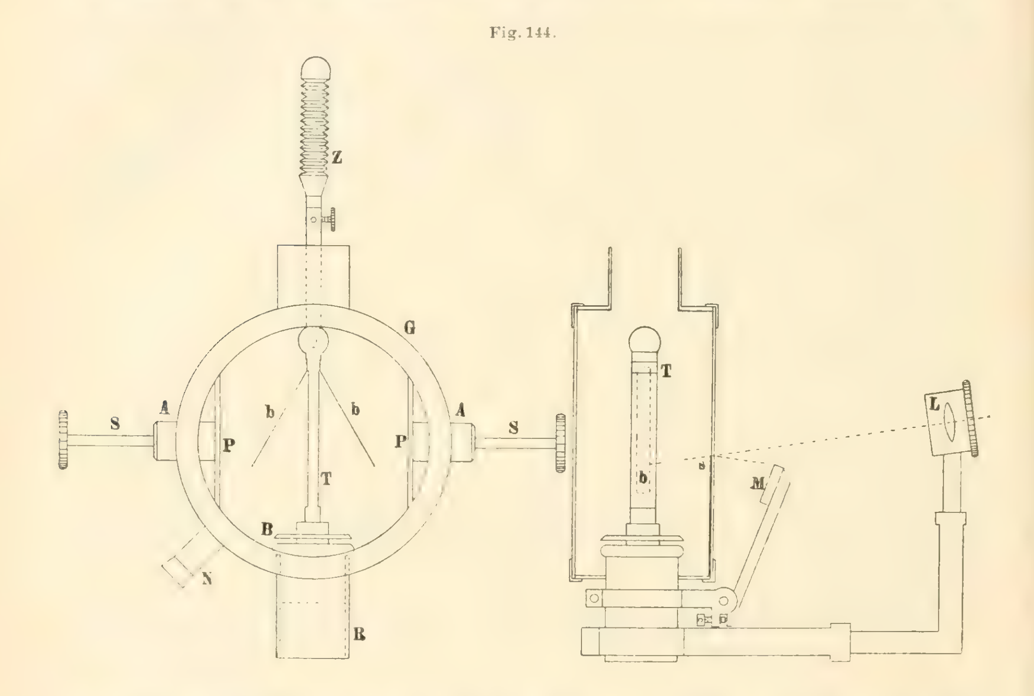
[1]) *Günther* und *Tegetmeyer*, Braunschweig.

[2]) *Th. Wulf*, Phys. Zeitschr. Bd. **10**. S. 251 (1909). Lieferant *Günther* und *Tegetmeyer*, Braunschweig.

verbindet. Es besteht (Fig. 145) aus zwei leitend gemachten Quarzfäden, welche oben und unten zusammengehalten werden. Beim Laden des Elektrometers spreizen sich dieselben. Die Spreizung der Fäden wird am Okularmikrometer des Beobachtungsmikroskopes abgelesen. Die Fäden sitzen in einem doppelten Gehäuse. Wenn das innere, isolierte auf eine bekannte hohe Spannung aufgeladen wird, rückt der Meßbereich um diese Spannung herauf. Das Elektrometer wird auch für γ-Strahlenmessungen eingerichtet geliefert.

Die Eichung der Elektrometer kann mit kleinen Normalelementen geschehen, die zu 100 Stück (Spannung 102 Volt) in einem Kästchen mit

Fig. 144.



Paraffin eingegossen von *Spindler & Hoyer*, Göttingen, geliefert werden[1] (Fig. 146). Diese kleine Batterie ist recht genau, sie ist aber vor Kurzschluß sorgfältig zu hüten, d. h. die beiden Pole dürfen auch durch einen hohen Widerstand nicht geschlossen werden. Zur Stromentnahme ist sie daher nicht zu gebrauchen. Steht eine genügend hohe Akkumulatorenbatterie zur Verfügung, so kann man nach dem in Fig. 147 gezeichneten Schaltungsschema dieselbe mit den Enden eines hohen Widerstandes A (zirka 10.000 Ohm) verbinden und an einem Bruchteile a desselben die Spannung abzweigen. Die Spanuung V wird am besten mit einem Präzisionsvoltmeter (10 Ohm Instrument von *Siemens & Halske* mit passenden

[1] Konstruktion von *Krüger*.

Vorschaltwiderständen) gemessen. Die an den Abzweigklemmen liegende Spannung v ist dann

$$v = \frac{V \cdot a}{A}.$$

Sollen nicht nur Vergleichsmessungen gemacht werden, sondern der Absolutwert der gemessenen Ionisationsströme bestimmt werden, wie dies bei Emanationsmessungen der Fall ist, so muß auch die Kapazität des Elektroskopes und der mit demselben verbundenen Apparate bekannt sein. Bei den käuflichen kompletten Apparaten für diese Zwecke ist die Kapazität meist mit genügender Genauigkeit angegeben. Man hat dann nur darauf zu achten, daß der Apparat genau in der vorgeschriebenen Konfiguration zusammengesetzt wird, da die Kapazität von der gegenseitigen Stellung der Apparatenteile zueinander abhängig ist.

Muß man die Kapazität einer Versuchsanordnung selbst bestimmen, so benutzt man am besten die Methode von *Harms*, die auch bei kleinen

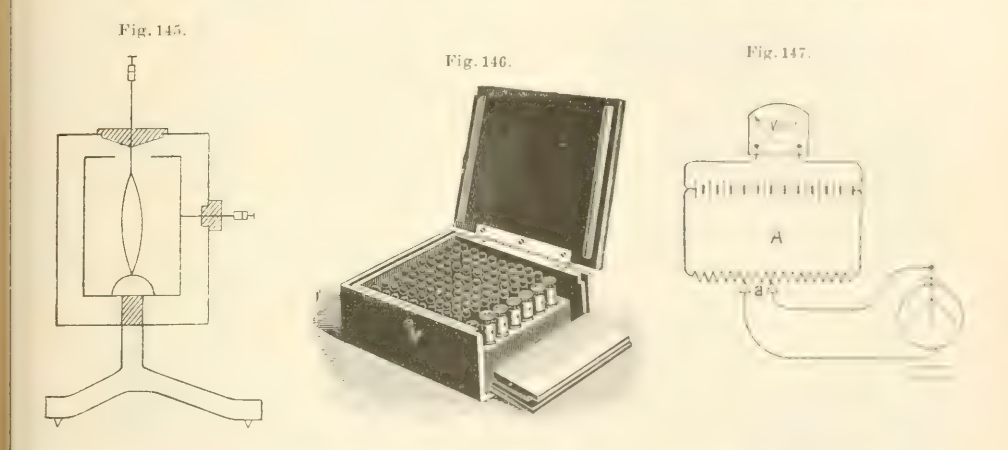


Fig. 145. Fig. 146. Fig. 147.

Kapazitäten gute Resultate gibt, wo die sonst gebrauchte Methode der Ladungsteilung versagt. Auf die ausführliche Beschreibung der *Harms*schen Methode sei verwiesen[1]; der Kondensator dazu wird von *Günther* und *Tegetmeyer* geliefert.

Hat man stärkere Ströme nach der elektroskopischen Methode zu messen, so können sich die Elektroskopblättchen so schnell bewegen, daß eine genaue Messung nicht möglich ist. Man schaltet dann zu dem Elektroskop eine Kapazität parallel. Solche Hilfskapazitäten kann man sich leicht selbst machen, indem man zwei Messingröhren von einigen Zentimetern Weite mit Paraffin oder Bernstein ineinander befestigt. Je enger der Zwischenraum und je größer die Oberfläche der Röhren, um so größer ist die Kapazität. Die äußere Röhre wird geerdet (mit dem Elektroskopgehäuse verbunden), die innere mit dem Elektroskopblättchen verbunden.

[1]) *F. Harms*, Physik. Zeitschr. Bd. 5, S. 47 (1904).

Einen Kondensator aus mehreren konzentrischen Messingröhren von variabler Kapazität (nach *Gerdien*) liefert *Spindler & Hoyer* (Fig. 148).

Für die Auflademethode kommt als Elektrometer nur das Quadrantelektrometer, am besten in der Form von *Dolezalek* mit Bernsteinisolation in Betracht. Diese Methode zur Bestimmung von Ionisationsströmen ist genauer als diejenige der Beobachtung des Spannungsabfalles am Elektroskop, der Aufwand an Apparaten ist aber ein viel größerer. Man braucht außer dem Quadrantelektrometer eine Batterie, am besten eine *Krüger*-Batterie aus Normalelementen, zum Laden der Elektrometernadel. Die

Fig. 148.

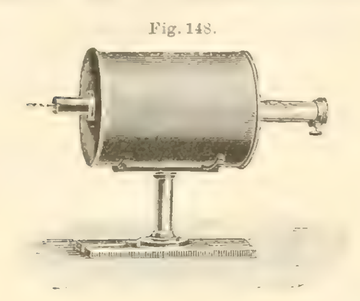
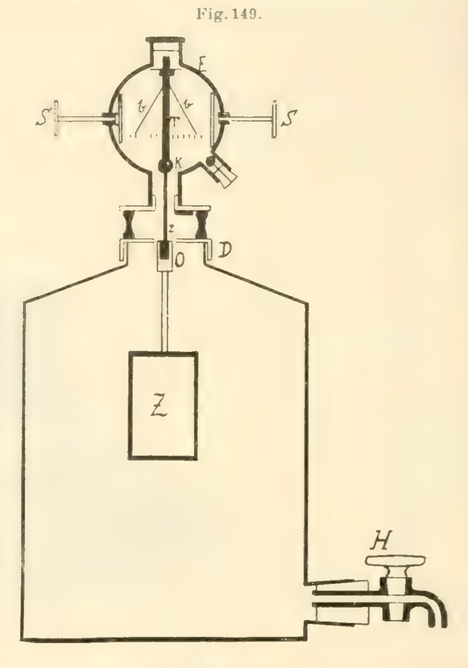


Fig. 149.



Ionisationskammer kann nicht als Bestandteil des Elektrometers ausgebildet werden, da die am Quadrantelektrometer meßbaren Spannungen zur Hervorrufung des Sättigungsstromes zu gering sind; man braucht also noch eine besondere Batterie zur Herstellung des Feldes im Ionisationskondensator. Das Quadrantelektrometer selbst ist ein ziemlich diffiziler Apparat und erfordert einige Zeit und Übung zur Aufstellung und Justierung. Es sei darum hier nur auf das entsprechende Kapitel in *Kohlrauschs* Lehrbuch der praktischen Physik[1]) verwiesen.[2])

Komplette Apparaturen. Zusammenstellungen von Elektrometern und Ionisationskammern sind meist für den Zweck der Emanationsbestimmungen konstruiert und käuflich erhältlich. Die beiden gebräuchlichsten Instrumente dieser Art sind das „Fontaktoskop" von *Engler* und *Sieveking* und die von *Schmidt* angegebene Apparatur.

Das Fontaktoskop (Fig. 149)[3]) besteht in seiner Originalform aus einem *Elster*- und *Geitel*schen Elektroskop *E*, das auf eine 10 *l* fassende, kannen-

[1]) Elfte Auflage, S. 590.

[2]) Verfügt man über eine Hochspannungsbatterie von mindestens 1000 Volt, so kann man an Stelle des Quadrantelektrometers auch ein empfindliches *Wulf*sches Elektrometer, eventuell mit parallelgeschalteter Kapazität verwenden, siehe z. B. *J. Plesch, L. Karczag* und *Keetmann*, Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. Bd. 12 (1912).

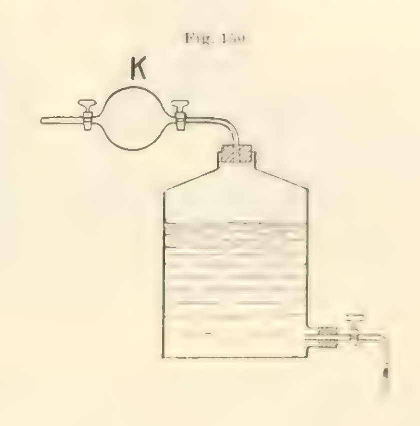
[3]) *Günther* und *Tegetmeyer*, Braunschweig.

förmige Ionisationskammer aufgesetzt wird. Die Isolation der Elektroskopblättchen befindet sich im oberen Teile des Elektrometergehäuses. In die Kammer hinein ragt die (auch Zerstreuungskörper genannte) Elektrode Z, welche das elektrische Feld in der Ionisationskammer erzeugt.

Das Fontaktoskop wird meist zur Bestimmung des Emanationsgehaltes von natürlichen oder künstlichen aktiven Wassern benutzt. Die speziellen Anweisungen für den Gebrauch des Apparates für diesen Fall sind im sechsten Kapitel angegeben. Für die Genauigkeit derartiger Messungen ist es sehr wünschenswert, die Meßkanne luftdicht verschlossen zu halten. Dies wird im Fontaktometer von *Mache* und *Meyer*[1]) erreicht, das sonst ganz ähnlich wie das Fontaktoskop konstruiert ist.

Soll der Emanationsgehalt eines Gases, das zweckmäßig in einer Kugel mit zwei Hähnen transportiert wird (Fig. 150), mit dem Fontaktoskop bestimmt werden, so wird das betreffende Gas am besten in der Weise in die Kanne geleitet, daß die Kanne vollständig mit emanationsfreiem Wasser[2]) gefüllt, mit einem durchbohrten Gummistopfen mit Hahn verschlossen wird und dann das Wasser durch den an dem Apparat befindlichen unteren Hahn abgelassen wird. Es zieht dann das Gas nach. Soll die Luft eines Zimmers auf den Emanationsgehalt untersucht werden, so ist natürlich der obere Stopfen und Hahn überflüssig; man läßt einfach das Wasser ablaufen.

Fig. 150.



Die Ionisationskammer besteht zweckmäßig aus Zinkblech. Es läßt sich dann ihre Oberfläche am besten von radioaktiven Beschlägen, welche sich beim Arbeiten mit Emanation etc. bilden und den Normalverlust schließlich unzulässig erhöhen, dadurch reinigen, daß die Kanne mit Wasser ausgespült respektive abgewischt wird, das mit Salzsäure versetzt ist. Dadurch wird zwar die Oberfläche der Kanne angegriffen, aber auch aller aktiver Beschlag weggeätzt.

Der Apparat von *H. W. Schmidt* (Fig. 151)[3]) besteht aus einem einblättrigen Elektrometer *E*, auf welchen die Ionisationskammer *K* aufgeschraubt ist. Zur Einleitung der Emanation ist die Kammer *K* mit zwei Hähnen versehen, im übrigen vollkommen luftdicht. Die Emanation wird beim *Schmidt*schen Apparat in einer besonderen Flasche *F* aus dem zu untersuchenden Wasser durch Schütteln ($1^1/_2$ Minuten lang) ausgetrieben

[1]) *Mache* und *Meyer*, Zeitschr. f. Instrumentenkde. Bd 29, S. 65 ([illegible]).

[2]) Wenn, wie es in Badeorten vorkommt, auch das Leitungswasser etwas aktiv ist, wird dies am besten ausgekocht oder destilliertes Wasser genommen.

[3]) *Spindler* und *Hoyer*, Göttingen.

und durch ein Zirkulationsgummigebläse *G* mit der in der Ionisierungskammer befindlichen Luft vermischt. Die in der Schüttelflasche und in den Schläuchen zurückbleibende Emanation muß durch Rechnung berücksichtigt werden.[1])

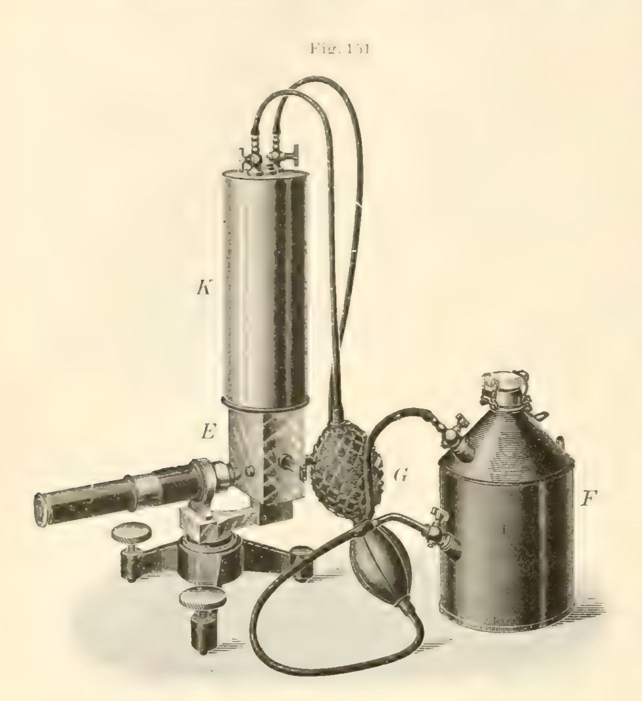


Fig. 151

Feste Körper können in einer ringförmigen Schale untersucht werden, welche auf den Boden der Ionisierungskammer paßt.

V. Die radioaktiven Körper.

Der Beschreibung der wichtigeren radioaktiven Körper möge eine Tabelle vorausgehen (siehe Seite 816), welche sämtlichen bekannten radioaktiven Elemente mit den auf sie bezüglichen Konstanten erhält.[2])

Uran.

Uran ist in seinen Verbindungen ein käuflicher Körper.[3]) Da aus dem Uran das Uran X entsteht, ein Körper von relativ kurzer Lebensdauer (Halbwertszeit = 24·6 Tage), so wird praktisch das Uran auch die Gleichgewichtsmenge Uran X enthalten. Es wird dann als Strahlen aussenden: α-Strahlen von 2·7 *cm* Reichweite (vom Uran selbst stammend), β-Strahlen, welche von 0·48 *mm* Aluminiumblech zur Hälfte absorbiert werden (vom Uran X), und γ-Strahlen, welche von zirka 1 *cm* Blei zur Hälfte geschwächt werden (vom Uran X). Außerdem sendet das Uran X eine sekundäre β-Strahlung, eine sogenannte δ-Strahlung aus, welche so weich ist, daß sie fälschlich mit α-Strahlen verwechselt wurde. Durch 0·05 *mm* Aluminium läßt sie sich absorbieren. Wendet man ein Blech von dieser Dicke an, so schaltet man die δ-Strahlen und die α-Strahlen aus und erhält Präparate, welche β-Strahlen und schwache γ-Strahlen (beide vom Uran X) aussenden. Solche Präparate sind zwar schwach, aber leicht und billig herstellbar: in bequemer Weise erhält man z. B. Uranplatten beliebiger Form, wenn man das käufliche schwarze Uranoxyd mit Gips anrührt und zu der gewünschten Form ausgießt. Die Dicke der Platten braucht nur einige

[1]) *H. W. Schmidt*, Physik. Zeitschr. Bd. **6**. S. 561 (1905).

[2]) Nach *Landolt-Börnstein-Roth*, Physikalisch-chemische Tabellen. 4. Aufl. 1912.

[3]) Uransalze sind starke Gifte.

Millimeter zu betragen, da es hauptsächlich auf die Oberfläche ankommt. Man kann auf diese Weise z. B. eine Kammer mit aktiven Wänden versehen und Dauerversuche an Pflanzen etc. vornehmen. Benutzt man solche Uranplatten ohne dünnes Aluminium, so bekommt man auch die α-Strahlen des Urans (Reichweite in Luft nur 2·7 *cm*), sowie die β-Strahlen des Uran X. Zum Vergleich der Intensität der Uranstrahlen mit denen des Radiums sei angeführt, daß die α-Strahlung der gleichen Gewichtsmenge Radium zirka 2 Millionen mal stärker ist. 2 *kg* Uran wären demnach in bezug auf die α-Strahlung 1 *mg* Radium äquivalent. Praktisch wird das Verhältnis jedoch für das Uran sehr viel ungünstiger, weil in der sehr viel größeren Masse des Urans die Strahlen sehr vielmal stärker absorbiert werden. Etwas günstiger wird sich in der Praxis die β-Strahlung repräsentieren, da sie hier in einer gewissen Tiefe aus dem Präparat herausdringt. Immerhin ist die Wirkung gegenüber Radiumpräparaten sehr schwach und man wird nur bei sehr lang dauernden Bestrahlungen etwas erreichen können.

Uran und Uran X lassen sich auch durch chemische Operationen voneinander trennen, so daß man einerseits reines Uran als α-Strahler, andrerseits Uran X als β- und γ-Strahler bekommt. Die Trennung dürfte jedoch für die meisten Fälle wenig Zweck haben, da das Uran wieder Uran X nachbildet (in 24·6 Tagen die Hälfte der Gleichgewichtsmenge), Uran X hingegen wieder in 24·6 Tagen zur Hälfte zerfällt. Die Strahlung des Uran X kann man zudem von jedem Uranpräparat bekommen, wenn man die oben angeführte Absorption der α-Strahlen des Uran durch dünnes Aluminiumblech vornimmt.

Jonium.

Jonium ist käuflich zu erhalten (z. B. bei *de Haën*, Seelze bei Hannover). Es kommt in Betracht, wenn nur α-Strahlen untersucht werden sollen, denn diese allein sendet es aus (Reichweite 2·8 *cm*). Vor dem zu gleichem Zwecke häufig benutzten Polonium hat es den Vorzug, daß es nicht wie dieses in der Wirksamkeit abnimmt, sondern in seiner Strahlungsintensität absolut konstant ist, da die Halbwertszeit in der Größenordnung von 30.000 Jahren liegt.

Radium.

Die käuflichen Radiumpräparate sind Bromid-, Chlorid- oder Karbonatverbindungen des Radiums. Es wäre am praktischsten, wenn das Radium auch in seinen Verbindungen nach dem Gehalt an Radiummetall, dem eigentlich Wirksamen bei den Präparaten, verkauft würde. Leider geschieht dies nicht, man muß also darauf achten, in welcher Verbindung das Radium vorliegt. Auch werden Präparate mit und ohne Kristallwasser verkauft; die letzteren sind natürlich wertvoller. Beim Einkaufe von Radium muß man auch berücksichtigen, ob man die Absicht hat, das Präparat zur Gewinnung der Emanation aufzulösen. Alte Präparate, welche, wie es meistens geschieht, in Hartgummikapseln aufbewahrt waren, sind nämlich meistens unlöslich; man nimmt an, daß dies durch Aufnahme von Schwefel (aus dem Hartgummi) und Umwandlung des Präparates in un-

Tabelle II.

Name	Halbwertzeit T	Zerfallskonstante λ für die Sekunde	Strahlen	α-Strahlen		β-Strahlen			γ-Strahlen	
				Reichweite in Luft in *cm*	Geschwindigkeit in *cm/sec.*	Absorptionskoeffizient k pro *cm* Aluminium	Halbierungsdicke in *cm* Aluminium	Geschwindigkeit (Lichtgeschwindigkeit = 1)	Absorptionskoeffizient pro *cm* Blei	Halbierungsdicke in *cm* Blei
Uran	$4.4 \cdot 10^{9}$ Jahre	$4·5 \cdot 10^{-18}$	α	2·7	$1·5 \times 10^{9}$	—	—	—	—	—
↓ Uran X	24.6 Tage	$3·26 \cdot 10^{-7}$	β, γ	—	—	14·4, 510	0·048, 0·00136	0·92	0·72	0·96
↓ Jonium	ca. 30000 Jahre	ca. 10^{-12}	α	2·8	$1·52 \times 10^{9}$	—	—	—	—	—
↓ Radium	1760 Jahre	$1·25 \cdot 10^{-11}$	α, β	3·50	$1·63 \times 10^{9}$	312	0·002	—	—	—
↓ Radium-Emanation	3·85 Tage	$2·085 \cdot 10^{-5}$	α	4·23	$1·75 \times 10^{9}$	—	—	—	—	—
↓ Ra A	3·0 Minuten	$3·85 \cdot 10^{-3}$	α	4·83	$1·82 \times 10^{9}$				—	
↓ Ra B	26·7 Minuten	$4·33 \cdot 10^{-4}$	β, γ	-	—	75·0	0·0092		—	—
↓ Ra C_1 } Ra C	19·5 Minuten	$5·93 \cdot 10^{-4}$	α	7·06	$2·06 \times 10^{9}$	—	—			—

Ra C_2 } Ra C''	1·38 Minuten	$8·4 . 10^{-3}$	β, γ	—	—	13·2, 53	—		0·50—0·52	1·39—1·34
↓ Ra D	16·5 Jahre	$1·36 . 10^{-9}$	β	—	—	130 ?	0·0053 ?	0·31 u. 0·37	—	—
↓ Ra E	5·0 Tage	$1·6 . 10^{-6}$	β, γ	—	—	43·3	0·016	0·77	—	—
↓ Ra F-Polonium	136 Tage	$5·90 . 10^{-8}$	α	3·86	$1·69 \times 10^9$	—	—	—	—	—
Thorium	$3·10^{10}$ Jahre	$7 . 10^{-19}$	α	3·5	$1·63 \times 10^9$			—	—	—
↓ Mesothorium 1	5·5 Jahre	$4·0 . 10^{-9}$	?	—	—		—	—	—	—
↓ Mesothorium 2	6·2 Stunden	$3·1 . 10^{-5}$	β, γ	—	—	20—38·5	0·034–0·018	—	0·62—0·64	1·12—1·08
↓ Radiothorium	737 Tage	$1·09 . 10^{-8}$	α	3·9	$1·69 . 10^9$	—	—	—		
↓ Thorium X	3·64 Tage	$2·21 . 10^{-6}$	α, β	5·7	$1·92 . 10^9$	ca. 330	ca. 0·002			
↓ Thor-Emanation	54 Sekunden	$1·28 . 10^{-2}$	α	5·5	$1·90 . 10^9$	—			—	
↓ Thorium A	10·6 Stunden	1·81 . 10 [illegible]	β			111	0·0062	0·63		—
↓										

Tabelle II (Schluß).

Name	Halbwertszeit T	Zerfallskonstante λ für die Sekunde	Strahlen	α-Strahlen		β-Strahlen			γ-Strahlen	
				Reichweite in Luft in *cm*	Geschwindigkeit in *cm/sec.*	Absorptionskoeffizient k pro *cm* Aluminium	Halbierungsdicke in *cm* Aluminium	Geschwindigkeit (Lichtgeschwindigkeit = 1)	Absorptionskoeffizient pro *cm* Blei	Halbierungsdicke in *cm* Blei
Thorium B	5·5 Minuten	$2·10 . 10^{-4}$	α	5·0	$1·84 . 10^{9}$	—	—	—	—	—
Thorium C	einige Sek.	?	α	8·6	$2·20 . 10^{9}$	—	—	—	—	—
Thorium D	3·1 Minuten	$3·7 . 10^{-3}$	β, γ	—	—	16·3	0·0425	0·93–0·95	0·41–0·46	1·70–1·50
Aktinium	?	?	?	—	—	—	—	—	—	—
Radioaktinium	19·5 Tage	$4·1 . 10^{-7}$	α, β	4·8	$1·81 \times 10^{9}$	170	0·004	—	—	—
Aktinium X	10·2 Tage	$7·6 . 10^{-7}$	α	6·55	$2·01 \times 10^{9}$	—	—	—	—	—
Akt.-Emanation	3·9 Sekunden	$1·78 . 10^{-1}$	α	5·8	$1·93 \times 10^{9}$	—	—	—	—	—
Aktinium A	36·1 Minuten	$3·21 . 10^{-4}$	β	—	—	sehr weich	?	—	—	—
Aktinium B	2·15 Minuten	$5·38 . 10^{-3}$	α	5·50	$1·90 \times 10^{9}$	—	—	—	—	—
Aktinium C	5·10 Minuten	$2·27 . 10^{-3}$	β, γ,	—	—	28·5	0·0243	—	1·85–4·24	0·375–0·163

Als ganz schwach aktive Körper, welche weiche β-Strahlen emittieren, gelten endlich neuerdings Kalium und Rubidium.

lösliches Sulfid geschehen ist. Solche Präparate müssen durch Schmelzen mit Kalium-Natriumkarbonat löslich gemacht werden, eine Operation, die auch der Chemiker, der nicht speziell mit Radium gearbeitet hat, wegen der Kleinheit der zur Verarbeitung gelangenden Substanzmengen nur ungern machen wird. Liegt das Karbonat des Radiums vor, so wird die Auflösung durch einen Tropfen Salzsäure bewirkt. Die Messung der Radiumpräparate geschieht durch Vergleich mit einem Präparate von bekanntem Gehalte nach der γ-Strahlenmethode.

Ein Radiumpräparat, welches von seinen Zerfallsprodukten (z. B. durch Auflösen und Eindampfen) befreit ist, sendet neben einer schwachen δ-Strahlung nur α-Strahlen aus. Da man als α-Strahler aber bequemere Körper hat (Polonium, Jonium), kommt es für die praktische Anwendung nicht in Betracht.

Ist das Radiumpräparat mindestens einen Monat alt und ist dasselbe luftdicht verschlossen, so steht es im radioaktiven Gleichgewicht mit der sich aus ihm entwickelnden Emanation und den drei nächsten Zerfallskörpern, dem Radium A, B und C. Mit der Strahlung dieser Körper (siehe Tabelle II) hat man also bei einem gewöhnlichen Radiumpräparat zu rechnen. Erst im Laufe von Jahrzehnten (bedingt durch die Periode des Radium D [16 Jahre]) sammeln sich auch die langsam zerfallenden Körper Radium D, E und F (Polonium) in dem Präparate an. Die Strahlung dieser Körper ist aber wenig durchdringend und kommt deswegen für gewöhnlich nicht in Betracht.

Die hauptsächliche Anwendung findet nämlich ein Radiumpräparat in fester Form als Quelle durchdringender β- und γ-Strahlung.

Die β-Strahlung tritt sogar in mehreren Stufen der Durchdringungsfähigkeit auf; durch sukzessive Anwendung immer stärker werdender Aluminium- und Silberbleche kann man immer härtere Strahlen absondern. Durch 1 *mm* Blei oder 2 *mm* Messing gehen schließlich nur die γ-Strahlen hindurch. Es ist zu berücksichtigen, daß man diese letzteren immer dabei hat, wenn man mit β-Strahlen arbeitet.

Radiumemanation.

Die Radiumemanation ist wegen ihres gasförmigen Charakters für viele biologische Versuche von besonderer Bedeutung. Von dem Radiumpräparat entfernt, zerfällt sie in 3·86 Tagen zur Hälfte. Für sich allein sendet die Emanation nur α-Strahlen von 4·33 *cm* Reichweite aus. Verhältnismäßig schnell (in 2—3 Stunden bis zur Gleichgewichtsmenge) sammelt sich aber in der Emanation der schnell zerfallende aktive Niederschlag des Radiums (Ra A, B und C) an. Derselbe ist ein fester Stoff und schlägt sich an den Körpern, die mit der Emanation in Berührung sind, und zwar vorzugsweise an negativ geladenen nieder. Die zahlreichen α-, β- und γ-Strahlen dieses aktiven Niederschlages addieren sich also zu der Strahlung der Emanation selbst und bewirken, daß der Emanation praktisch dasselbe Strahlungsvermögen zukommt wie Radiumpräparaten, bei welchen nur noch die α-Strahlung des Radiums selbst hinzutritt. Es ist

allerdings zu beachten, daß man bei der Emanation nicht wie bei festen Radiumpräparaten imstande ist, die einzelnen Strahlenarten durch absorbierende Filter voneinander zu trennen, sondern daß man vielmehr immer mit der Gesamtwirkung aller Strahlen zu rechnen hat. Den weitaus größten Prozentsatz der Energie repräsentieren freilich die α-Strahlen, welche von der Emanation und ihren Abkömmlingen ausgesandt werden, und ihnen sind vermutlich die günstigen Wirkungen zuzuschreiben, welche die Emanation in vielen Fällen ausübt. Wegen des gasförmigen Charakters der Emanation gestattet sie auch am besten die Applikation der α-Strahlen im Innern des tierischen oder pflanzlichen Organismus. Von außen angewendet würden ja α-Strahlen in wenigen Hundersteln Millimetern Tiefe von jedem Körper absorbiert werden. Immerhin wären Versuche mit reinen α-Strahlern (Polonium, Jonium) zur Klärung der Frage nach dem Wirksamen bei der Emanation wünschenswert.

Die zuverlässigste Gewinnungsmethode für die Radiumemanation ist Austreibung aus einer Radiumlösung durch Kochen oder besser Durchtreiben eines Luftstromes. Die Methoden hierfür werden weiter unten bei dem Kapitel Anwendungen (Seite 823) beschrieben werden. In festen Radiumpräparaten wird die Radiumemanation zurückgehalten, und zwar je nach der Natur des Präparates in verschieden starkem Maße. Radiumsulfat und trockenes -chlorid hält die Emanation fast vollständig zurück. Radiumbromid läßt bis zur Hälfte der Emanation entweichen, während aus dem Karbonat die Emanation anscheinend ganz frei entweicht.[1]) Das gilt aber nur für reine Präparate; bei unreinen Präparaten kann man das Emanationsvermögen nicht voraussagen. Liegt ein starkes Radiumpräparat vor und scheut man sich davor, zum Zwecke der Emanationsgewinnung dasselbe aufzulösen, so kann der einfache Versuch häufig lohnend sein, ob dasselbe für einen bestimmten Zweck unaufgelöst genügend Emanation liefert. Es genügt dazu, das Präparat, nachdem es von dem meist verwendeten schützenden Glimmerblättchen vorsichtig befreit ist, in einem geschlossenen Gefäß aufzubewahren, durch das ein schwacher Luftstrom geleitet werden kann (Fig. 152). Der Luftstrom nimmt dann die freiwerdende Emanation in den Versuchsraum mit. Beim Öffnen des Präparates entweicht natürlich viel Emanation in die Luft.[2]) Man kann darum beim ersten Versuch nicht die größtmögliche Emanationsmenge erhalten; erst nach zirka 3—4 Wochen hat sich diese wieder angesammelt. Es gilt hier die Regel, die auch bei dauernder Entnahme von Emanation anzuwenden ist, daß sich in 3·8 Tagen die Hälfte der fehlenden Emanationsmenge wieder nachbildet. Entnimmt man die Emanation von dem Präparate in regelmäßigen Pausen, so wird im Verlaufe von 3—4 Wochen die jedesmal entnommene Menge konstant.

Bemerkt muß noch werden, daß man stets die Emanation in außerordentlich verdünntem Zustande erhält, d. h. mit sehr viel inaktivem Gas.

[1]) *Soddy*, Natur des Radiums. S. 99.

[2]) Dasselbe ist daher nicht in einem Raume vorzunehmen, in welchem elektrometrische Messungen vorgenommen werden.

also meistens mit Luft vermischt. Wie verschwindend klein die Mengen der Emanation selbst sind, mit denen man meistens arbeitet, geht aus der Angabe hervor, daß in einem ganzen Gramm Radium im Gleichgewichtszustande 0·585 Kubikmillimeter Emanation von Atmosphärendruck enthalten sind.

Die aktiven Niederschläge des Radiums. Polonium.

Für eine Isolierung der Produkte: Radium A, B und C, welche aus der Emanation zunächst entstehen, dürfte im allgemeinen wenig Interesse sein, da diese Produkte relativ schnell zerfallen. Sie sind übrigens leicht zu gewinnen, da nur nötig ist, den betreffenden Körper, auf den man den aktiven Niederschlag konzentrieren will, in Berührung mit der Emanation zu bringen. Das kann z. B. in einem geschlossenen Gefäße geschehen, auf dessen Boden sich ein emanierendes Präparat oder besser eine Radiumlösung befindet. Verbindet man den Körper mit einer negativen Spannung

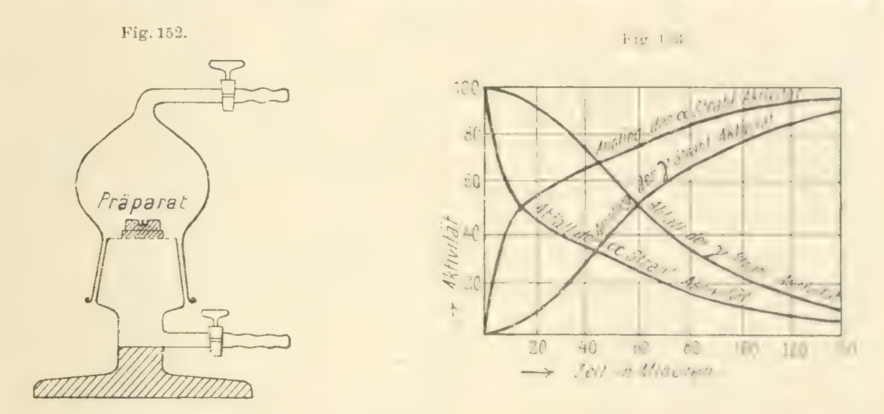


Fig. 152.

Fig. 153.

(Akkumulatorenbatterie oder Zentrale mit dazwischen geschalteter Glühlampe), so wird die Ausbeute am aktiven Beschlag sehr viel mal größer.

Von praktischem Interesse ist die Schnelligkeit, mit der sich der aktive Beschlag aus einer gegebenen Menge Emanation bildet. Alle Messungen der Radiumemanation werden nämlich durch die Bildung des aktiven Beschlages sehr gestört. In Fig. 153 ist der Anstieg der α-Strahlen und derjenige der γ-Strahlenintensität mit Dauer der Exposition dargestellt. Die α-Strahlenintensität rührt anfänglich nur von der Bildung von Ra A her, in ihrem späteren Verlaufe auch von Ra C. Die γ-Strahlkurve gibt die Bildung des Radium C wieder, da nur dieses γ-Strahlen aussendet.[1]) Der Abfall der α- und γ-Strahlaktivitäten nach Entfernung der Emanation ist gleichfalls in Fig. 153 dargestellt.

Von den weiteren Produkten der Radiumzerfallsreihe ist noch das **Polonium** von Interesse, da es, wie bereits erwähnt, als reiner α-Strahler

[1]) Bei Emanationsmessungen kommt die [illegible] zu der α-Strahlenintensität der Emanation addiert.

von relativ langer Lebensdauer (Halbierungszeit 136 Tage) Verwendung findet. Es wird von der Chininfabrik *Buchler & Co.* in Braunschweig zu wohlfeilem Preise geliefert, und zwar in Form eines sehr dünnen Niederschlages auf Kupferblechen. Man kann auch Körper aus Kupfer, auf denen man einen Niederschlag von Polonium haben will, einsenden. Der Preis wird nach der aktiven Fläche ($1\,cm^2$ = zirka 10 Mark) berechnet.

Thorium, Mesothorium.

Von den Körpern der Thorreihe ist das erste Glied, das reine Thorium in seiner Aktivität nur ungefähr dem Uranium gleichwertig. Es hat darum keine besondere praktische Bedeutung.

Sehr wichtig sind indessen neuerdings die Mesothorpräparate geworden, die als Abfallsprodukt bei der Glühstrumpffabrikation gewonnen und in den Handel gebracht werden.[1] Sie können als Ersatz für Radiumpräparate in allen den Fällen, wo man β- und γ-Strahlen braucht, dienen. Die Thoriumemanation kommt wegen ihrer kurzen Lebensdauer kaum in Betracht. In bezug auf die β- und γ-Strahlen ist zu bemerken, daß dieselben etwas weniger durchdringend als die entsprechenden Strahlen des Radiums sind. Die Stärke der Präparate wird durch Vergleich der γ-Strahlung mit derjenigen eines bekannten Radiumpräparates gemessen. Dieser Vergleich ist natürlich ein ganz willkürlicher und bezieht sich eben nur auf die γ-Strahlung. Ein anderer Vergleich ist aber praktisch leider nicht möglich, und da in der Praxis nur die durchdringenden Strahlen der Präparate gebraucht werden, hat diese Vergleichsmethode auch ihre Berechtigung. Die α-Strahlaktivität der Thorpräparate ist geringer als diejenige der Radiumpräparate.

Wenn Mesothorpräparate frisch hergestellt sind, so rührt ihre Aktivität vom Mesothorium 2 her, das wegen seiner kurzen Lebensdauer (6·2 Stunden) praktisch immer im Gleichgewicht mit Mesothor 1 ist. Da aus dem Mesothor 2 sich das Radiothorium mit der Periode von 2 Jahren bildet, so nehmen frische Mesothorpräparate noch ungefähr 3·2 Jahre an Aktivität zu. Danach nimmt ihre Aktivität langsam ab, so daß sie in ca. 10 Jahren wieder die gleiche, wie die Anfangsaktivität beträgt, in ungefähr 20 Jahren dagegen auf die Hälfte der Anfangsaktivität gesunken ist. In dem Maße, wie sich das Radiothor aus dem Mesothor bildet, sammeln sich auch die weiteren Körper der Thorzerfallsreihe an, das Thor X, die Thoremanation und Thor A—D. Da alle diese Körper aber verhältnismäßig kurzlebig sind, so sind sie immer in einer dem Radiothor proportionalen Menge vorhanden.

Auch Thor X-Präparate (Halbwertszeit = 3·6 Tage) sind neuerdings käuflich erhältlich. Diese Präparate senden, ganz frisch hergestellt, nur α-Strahlen aus. Es bildet sich aus ihnen aber Thoremanation, dann Thor

[1] Die käuflichen Mesothorpräparate enthalten fast immer noch einen ziemlichen Prozentsatz an Radium. Bezugsquellen: *Knöfler & Co.*, Berlin-Weißensee; *Auergesellschaft*, Berlin.

A, B usw. Da Thor A eine Halbwertszeit von 10,6 Stunden hat, so steigt zirka in den ersten 24 Stunden der Gehalt an Thor A und damit an Thor B, C und D (denn diese sind sehr kurzlebig) an, damit auch der Gehalt an durchdringender Strahlung. Das Thor X läßt sich deswegen schlecht durch die γ-Strahlen messen, besser durch die α-Strahlung.

Aktinium und seine Zerfallsprodukte kommen für biologische Versuche nicht in Betracht, da die Präparate sehr teuer, zudem in bezug auf Lebensdauer und Strahlung noch nicht genügend erforscht sind.

VI. Anwendungen.

Bei der Anwendung der radioaktiven Strahlen, d. h. bei der Untersuchung ihrer Wirkungen wird man prinzipiell zu unterscheiden haben, ob die Wirkung der leicht absorbierbaren, aber viel Energie mit sich führenden α-Strahlen oder diejenige der durchdringenden β- und γ-Strahlen zur Verwendung kommen soll. Jede dieser beiden Klassen von Strahlen kann besondere chemische Wirkungen ausüben.

Die Auseinanderhaltung derselben wird nach Ansicht des Verfassers noch mehr als bisher ein Thema der hierher fallenden Forschungen bilden. Versuche mit reinen α-Strahlen sind mit Polonium- und Joniumpräparaten möglich, existieren aber nach Kenntnis des Verfassers bis jetzt nicht. Die Aktivität derartiger Präparate kann nur durch Messung des Sättigungsstromes verglichen werden (siehe Kapitel IV). Bei Anwendung von Emanationen benutzt man α-, β- und γ-Strahlen. Dasselbe erreicht man auch mit unbedeckten Radiumpräparaten oder Thor X-Lösungen. Sehr leicht lassen sich jedoch von Radiumpräparaten die α-Strahlen durch ein dünnes Glimmerblatt zurückhalten. Dann erhält man die einfachste Anwendungsmethode, die nur die β- und γ-Strahlen der radioaktiven Körper benutzt.

Hierfür ist lediglich ein starkes Radium- oder Mesothorpräparat notwendig. Einige Milligramm dieser Substanzen werden in den meisten Fällen schon Wirkungen geben.

Für die Stärke der Einwirkung sind folgende Faktoren maßgebend:

1. Die Stärke des Präparates, sowie die Beschaffenheit (ob Radium- oder Mesothorpräparat) und die lokale Verteilung desselben.
2. Die Stärke der zur Verwendung kommenden Filter (Aluminium- oder Silberbleche).
3. Die Entfernung des Präparates von der Stelle der Einwirkung (die Wirkung nimmt bei Präparaten von kleiner Ausdehnung umgekehrt proportional mit der Entfernung ab).
4. Die Zeitdauer der Einwirkung.

Die Stärke der Präparate kann nur durch Vergleich mit einem Präparate von bekanntem Radiumgehalte bestimmt werden. Dies geschieht nach der γ-Strahlenmethode. Dazu kann jedes Elektroskop mit oder ohne Ionisierungskammer (siehe Abschnitt IV) dienen. Um nur die γ-Strahlen zu messen, wird entweder das Elektroskop (bis auf zwei Glasfenster zur Beobachtung) oder das Präparat allseitig mit einer Hülle von mindestens

2 *mm* dickem Blei umgeben. Die Messung selbst geht so vor sich, daß zunächst, nachdem alle radioaktiven Präparate in ein entferntes Zimmer geschafft sind, der Normalverlust des Elektroskopes bestimmt wird. Das Elektroskop wird dazu geladen und nach zirka 10 Minuten[1]) die Stellung des Elektroskopblättchens bestimmt. Nach zirka 15 Minuten wird wieder das Elektroskop abgelesen und der so gefundene Spannungsverlust auf 1 Stunde umgerechnet. Nun wird das zu untersuchende Präparat in eine solche Entfernung von dem Elektroskop gebracht, daß der Rückgang der Blättchen über ein bequem ablesbares Skalenintervall am Elektroskop nicht schneller als in ungefähr $^1/_2$—1 Minute erfolgt. Der so beobachtete Spannungsverlust wird auf 1 Stunde umgerechnet und der Normalverlust des Elektroskopes abgezogen. An genau der gleichen Stelle, wo das zu untersuchende Präparat stand, wird dann das Vergleichspräparat ebenso gemessen.

Beobachtet man so mit dem Präparat a Volt Spannungsabfall/Stunde, mit dem Vergleichspräparat von der Stärke C den Abfall von b Volt/Stunde (immer nach Abzug des Normalverlustes), so ist die Stärke x des zu untersuchenden Präparates

$$x = \frac{a}{b} \cdot C.$$

Ist das Elektroskop nicht in Volt geeicht, so kann man mit der Hilfe der Präparate selbst eine Auswertung der Skala vornehmen. Näheres darüber siehe bei *H. W. Schmidt.*[2])

Ein derartiger Vergleich von Präparaten läßt sich leicht auf wenige Prozente genau einführen. Einige Vorsicht ist nur nötig, wenn die Stärke der Präparate sehr verschieden ist. Man muß dann vor allen Dingen darauf achten, daß bei dem stärkeren Präparat die Elektroskopblättchen nicht zu schnell zusammengehen, da in diesem Falle der Sättigungsstrom (siehe S. 801) unter Umständen nicht erreicht sein kann. Man muß dann zur Kontrolle die Messung bei größerem Abstande der Präparate wiederholen.

Sind die Präparate nicht luftdicht verschlossen[3]), so muß man sie mehrmals in Stanniol einwickeln, damit keine Emanation in das Zimmer entweicht, welche sofort einen Spannungsverlust am Elektroskop bewirken würde. Man tut in zweifelhaften Fällen gut, am Schluß der Messung den Normalverlust des Elektroskopes noch einmal zu bestimmen.

Was den Unterschied von Radium- und Mesothoriumpräparaten betrifft, so ist zu bemerken, daß die β- und γ-Strahlen von Radium etwas durchdringender sind als die von Mesothorium. Praktisch wird dieser Unterschied kaum ins Gewicht fallen. Die Dosierung der Mesothorpräparate geschieht auch nach der γ-Strahlenmethode.

[1]) Weil sofort nach der Ladung etwas Elektrizität in das Isolationsmaterial dringt. Deswegen ist in den ersten Minuten der Rückgang der Elektroskopblättchen ein wenig größer.

[2]) *H. W. Schmidt,* Phys. Zeitschr. Bd. 7. S. 157 (1906).

[3]) Die übliche Aufbewahrung von Radiumpräparaten in Hartgummikapseln, die mit Glimmerblättchen verschraubt sind, ist nicht luftdicht und läßt erhebliche Mengen von Emanation entweichen.

Besonders wenn auch die weicheren β-Strahlen zur Wirkung kommen sollen, ist es nicht gleichgültig, in welcher Position sich das Präparat in der Hartgummikapsel oder in dem Glasröhrchen, in dem es eingeschmolzen ist, befindet. Liegt das Salz z. B. in einem kleinen Loch in der Hartgummikapsel auf einem kleinen Haufen, so wird ein Teil der weicheren Strahlung in dem Präparat selbst absorbiert. Man kann das Präparat in bezug auf die weicheren Strahlen wirksamer machen, wenn man das möglichst kleinkörnige Präparat auf eine größere Oberfläche, also in einer Hartgummikapsel in einer flachen aber breiteren Vertiefung verteilt, eventuell unter Zuhilfenahme einer kleinen Menge eines Bindemittels (Kanadabalsam), das auf den Boden der Vertiefung gebracht wird.[1] [2])

Die Dicke des Filters, welches man bei Versuchen mit β- und γ-Strahlen anwendet, richtet sich in erster Linie nach der Tiefe, bis zu der man im Untersuchungsobjekt eine Wirkung haben will. Soll die Tiefenwirkung gering sein, so wird man, um die Zeitdauer des Versuches abzukürzen, möglichst dünne Filter nehmen ($^1/_{10}$ *mm* Aluminiumblech oder ein dünnes Glimmerblatt). Ist aber eine tiefere Wirkung erforderlich, so muß man dickere Filter nehmen, denn in der Zeit, in der die durchdringenden Strahlen in der Tiefe noch keine nennenswerte Wirkung hervorgebracht haben, werden die weichen kräftigen Strahlen in den obersten Schichten des Versuchsobjektes bereits störend große Wirkungen hervorgerufen haben. Über die Dicke der Filter allgemeine Angaben zu machen, hätte keinen Zweck; sie werden von Fall zu Fall verschieden sein. Speziell für medizinische Zwecke siehe die Angaben von *Bayet*.[3]) Beim Durchgang der β- und γ-Strahlen durch Metallschichten entstehen sowohl an der Vorderfläche wie an der Hinterfläche der getroffenen Schichten Sekundärstrahlen vom Typus einer weichen β-Strahlung. Diese muß gegebenenfalls durch einige Blatt Papier zurückgehalten werden.

Emanationen. Gleichzeitige Anwendung von α-, β- und γ-Strahlen[4]) gestattet die Benutzung der Emanation. Der gasförmige Charakter derselben bedingt die Besonderheiten in ihrer Anwendung. Fast ausschließlich wird die Radiumemanation benutzt, da Thorium- und Aktiniumemanationen zu schnell zerfallen. Auch bei der Anwendung der Radiumemanation muß ihr Zerfall (3·85 Tage — Halbwertszeit) stets berücksichtigt werden.

Will man die Emanation direkt als Gas benutzen, so wird vor allem die Größe des Versuchsraumes, der mit Emanation geschwängert werden soll, die Hauptrolle spielen. Handelt es sich um kleine Räume bis zu ungefähr 100 *l*, so wird man unter Umständen mit der Emanation auskommen, welche ein festes Präparat abgibt (den Apparat hierfür siehe Fig. [illegible], S. 821). Sonst muß man eine Radiumlösung verwenden und in bestimmten

[1]) Eine derartige Arbeit muß über einem Zinksulfidschirm ausgeführt werden.

[2]) Eine gute Verschlußmethode siehe bei *P. Wichmann*, Radium in Biologie und Heilkunde. Bd. 1. S. 196 (1912).

[3]) *Bayet*, Radium in Biologie und Heilkunde Bd. 1. S. [illegible] (1912).

[4]) Wobei allerdings die α-Strahlen den größten Teil der Energie repräsentieren.

Zwischenräumen die Emanation aus derselben durch Durchblasen von Luft austreiben. Natürlich muß (durch Glaswolle oder ähnliches) dafür Sorge getragen sein, daß beim Durchperlen der Luft nichts von der kostbaren Radiumlösung mitgerissen wird.

Soll die Emanation in größeren Mengen Verwendung finden, z. B. in einem Zimmer, so wird man einen der käuflichen Apparate anwenden müssen, wie sie jetzt von einer Reihe von Firmen hergestellt werden.

Eine ausgedehnte Anwendung finden die radioaktiven (künstlichen und natürlichen) Wässer zu Heilzwecken und biologischen Versuchen. Die natürlichen radioaktiven Quellwässer enthalten meist nur Radiumemanation, selten feste radioaktive Substanzen in Gestalt von Radium- und Thoriumverbindungen. Da die Radiumemanation in 3·85 Tagen zur Hälfte zerfällt, so nimmt der Emanationsgehalt eines Wassers mit der Periode von 3·85 Tagen stetig zur Hälfte ab, vorausgesetzt, daß das Wasser keine gelösten aktiven Substanzen enthält. Die Aktivität eines solchen Wassers ist daher nur kurze Zeit nach dem Abfüllen des Wassers wirksam. Dasselbe gilt auch von künstlichen Wässern, welche nur Emanation enthielten. Radiumlösungen hingegen entwickeln dauernd Emanation; dieselbe kann in regelmäßigen Zwischenräumen aus der Lösung entnommen werden, sei es durch Durchblasen von Luft, sei es durch Auskochen. Ob ein Wasser nur Emanation oder auch feste radioaktive Stoffe enthält, läßt sich leicht entscheiden. Man entfernt die Emanation durch Auskochen des Wassers vollständig und läßt dasselbe einige Tage stehen. Die gelösten Stoffe bilden dann Emanation nach, die sich in erneuter Aktivität des Wassers kundgibt. Soll das Wasser einer Quelle untersucht werden, so ist sorgfältig darauf zu achten, daß die Emanation beim Abfüllen des Wassers nicht ausgetrieben wird. Jegliches Umfüllen etc. ist zu vermeiden. Am besten verwendet man eine Kugel von ca. 1 *l* mit 2 Hähnen (Fig. 150, S. 813), durch welche man das zu untersuchende Wasser hindurchströmen läßt, z. B. durch Untertauchen der Kugel. Auch kann man die Kugel vorher evakuieren (mit einer Wasserstrahlpumpe). Die Hähne müssen dann allerdings gut gefettet sein.

Die Messung der Emanation kann in jeder Ionisationskammer, die mit einem Elektrometer verbunden ist, erfolgen. Komplette Apparate hierfür sind bereits auf S. 812 u. f. beschrieben worden. Die Apparate, deren Ionisationskammer sich nach Einführung der Emanation luftdicht verschließen läßt (Fontaktometer von *Mache* und *Meyer*, Apparat von *Schmidt*), sind vorzuziehen, da die Aktivität sich in ihnen länger verfolgen läßt.

Ist der Emanationsgehalt eines Wassers zu bestimmen, so muß die Emanation aus dem Wasser ausgetrieben werden. Dies geschieht am einfachsten durch intensives, ca. 1 Minute dauerndes Schütteln des in die Ionisationskammer eingefüllten Wassers. Beim Fontaktoskop und Fontaktometer wird dann einfach das Elektroskop aufgesetzt, beim Apparat von *Schmidt* wird die Emanation durch ein Zirkulations-Gummigebläse aus einer separaten Schüttelkanne mit der Luft der Ionisationskammer vermischt.

Alle Emanationsmessungen werden in ihrer Genauigkeit durch zwei Umstände beeinträchtigt. Erstens kommt derjenige Teil der Ionisation nicht zur Messung, welcher von denjenigen α-Strahlen herrührt, die in der Nähe der Wandungen der Ionisationskammer ausgesandt werden. Da die α-Strahlen der Radiumemanation eine Reichweite von 4·23 *cm* haben, wird ein Teil der Reichweite derjenigen α-Strahlen nicht ausgenutzt, welche in einer Entfernung kleiner als 4·23 *cm* nach der Wandung zu ausgesandt werden. Bei verschieden großen Gefäßen macht dieser Verlust einen ungleichen Prozentsatz aus; er muß deshalb, um vergleichbare Messungen zu erhalten, berücksichtigt werden. Dies geschieht nach *Duane*[1], indem der gefundene Stromwert mit $1-0·517\frac{O}{V}$ dividiert wird, wo O die Oberfläche, V das Volumen der Ionisationskammer bedeutet. Diese Formel gilt für zylindrische Gefäße, deren Höhe mehr als das Einfache bis zum Doppelten des Durchmessers beträgt.

Eine zweite Komplikation tritt dadurch ein, daß die Emanation sofort nach ihrem Eintreten in die Ionisationskammer aktiven Beschlag bildet, der sich an den Wänden absetzt. Es ist üblich, die Aktivität der reinen Emanation ohne den aktiven Beschlag anzugeben, die Wirkung des letzteren ist daher abzuziehen. Annäherungsweise läßt sich der Betrag des aktiven Beschlages bestimmen, wenn man unmitteibar nach der Messung der Emanation aus der Ionisationskammer das zu untersuchende Wasser und die Emanation entfernt[2], die übrig bleibende Aktivität mißt und in Abzug von der gemessenen Emanationsaktivität bringt. Die Methode ist deswegen nicht sehr genau, weil gleich nach dem Einfüllen der Emanation der aktive Beschlag sich erst bildet, und zwar in der ersten Viertelstunde ziemlich schnell; andererseits zerfällt er auch nach Entfernung ziemlich rasch, so daß man die gemessene Restaktivität gewöhnlich um 10% vergrößert. Es ist dies aber die einzig mögliche Methode, nach der mit dem offenen Fontaktoskop gearbeitet werden kann. Genauere Resultate erhält man, wenn man wartet, bis der aktive Beschlag das Maximum seiner Aktivität erreicht hat. Dies ist nach ca. 3½ Stunden der Fall. Nach Herausblasen der Emanation läßt sich dann der aktive Beschlag genauer messen und berücksichtigen.[3] Es ist allerdings dabei zu berücksichtigen, daß die Radiumemanation in dieser Zeit um einige Prozent abgefallen ist. Zu einer solchen Messung ist ein luftdicht verschlossener Ionisationsraum (Fontaktometer von *Mache* und *Meyer*, Apparat von *Schmidt*) notwendig.

Wasser absorbiert etwas die Radiumemanation, und zwar ist der

[1]) *Duane*, Journ. de phys. (4), Bd. 4, S. 605 (1905).

[2]) Die Emanation wird am besten durch Auffüllen mit [illegible] Wasser vertrieben; beim *Schmidt*schen Apparat durch das Gebläse.

[3]) Die Emanation allein liefert in zylindrischen Gefäßen [illegible] 44 [illegible] der Maximalaktivität nach 3½ Stunden.

Absorptionskoeffizient[1] (das Verhältnis der Sättigungskonzentration im Wasser zur Konzentration im Gase)

	bei 0°	20°	40°
α =	0·52	0·275	0·16

Die im Wasser absorbierte Emanationsmenge geht bei der Messung verloren. Bei den üblichen Apparaten macht eine diesbezügliche Korrektion ca. 2—3% aus. Man wird sie meistens vernachlässigen können.

Aus dem Mitgeteilten ergibt sich, daß eine genaue Messung der Emanation einigermaßen umständlich ist. Auch wenn weniger hohe Anforderungen an die Genauigkeit gestellt werden, müssen folgende Beobachtungen gemacht werden:

1. Ist der sogenannte Normalverlust des zusammengesetzten Apparates zu bestimmen. Derselbe soll nicht zu hoch sein (beim Fontaktometer höchstens 30—40 Volt/Stunde) und ist eventuell die Meßkanne mit schwach salzsaurem Wasser zu reinigen. Der Normalverlust ist von allen folgenden Messungen abzuziehen.

2. Das zu untersuchende Wasser wird in die Meßkanne möglichst vorsichtig (Durchperlen von Luft, welches die Emanation vertreibt, ist zu vermeiden!) eingefüllt und die Emanation durch Schütteln (1/2—1 Minute) der verschlossenen Kanne aus dem Wasser herausgebracht und (eventuell mit dem Zirkulationsgebläse) mit der Luft vermischt. Der Abfall am Elektroskop wird 2—3mal beobachtet. Von dem auf eine Stunde ausgerechneten Voltabfall wird der Normalverlust (1) abgezogen.

3. Wasser und emanationshaltige Luft werden aus der Meßkammer entfernt (mit inaktivem Wasser) und der Abfall des Elektroskops, der vom aktiven Beschlag herrührt, mehrere Male beobachtet. Von diesem Voltabfall/Stunde wird der Normalverlust abgezogen, das erhaltene Resultat um 10% vergrößert und dieses von dem Voltabfall bei der Emanationsmessung abgezogen.

4. Der so gefundene Voltabfall für die reine Emanation muß dann noch nach der *Duane*schen Formel (siehe S. 827) korrigiert werden.

Die Angabe des so gemessenen Voltabfalles hat an sich noch gar keinen Sinn, da er noch von der Kapazität der benutzten Anordnung abhängt (diese ist eventuell nach der *Harms*schen Methode leicht zu bestimmen). Vergleichbare Werte bilden erst die unter Berücksichtigung der Kapazität ausgerechneten Ströme. Es ist üblich, den Strom in elektrostatischen Einheiten anzugeben. Die Kapazität ist dann in Zentimeter anzugeben, die Angabe der Spannung in Volt durch 300 zu dividieren und als Zeiteinheit die Sekunde zu nehmen. Ist V der Voltabfall/Stunde, C die Kapazität in Zentimetern, so ist der Strom i in elektrostatischen Einheiten.

$$i = \frac{C \,.\, V}{300 \,.\, 3600}$$

[1]) *Hoffmann*, Phys. Zeitschr. Bd. **6**. S. 696 (1905).

Die so gefundene Zahl hängt natürlich von der Menge des untersuchten Wassers ab. Nach dem Vorgang von *Mache* bezieht man die Aktivität auf 1 *l* Wasser (oder auch Gas), wenn solches auf Emanation untersucht wird. Da die auf diese Weise erhaltenen Zahlen unbequem klein werden, multipliziert man sie mit 1000 und hat dann die in Deutschland allgemein üblichen *Mache*-Einheiten.[1] Ist zwischen dem Abfüllen des Wassers von der Quelle und der Messung Zeit verflossen, so ist der Abfall der Emanation natürlich zu berücksichtigen (Formel 1 a, S. 789).

Auf dem letzten Radiumkongreß in Brüssel 1910 ist als Einheit der Emanation diejenige festgesetzt worden, welche mit 1 *g* Radiummetall im Gleichgewicht steht. Derselben ist der Name 1 Curie gegeben worden. Die Verwendung dieser Einheit bietet mannigfachen Vorteil. Erscheint es schon zweckmäßiger, bei Emanationsmessungen, wie auch in anderen Fällen üblich, eine gewisse Menge dieser Substanz als Einheit zu nehmen, so ergeben sich andrerseits auch praktische Vorteile bei der Messung. Man hat nur nötig, die zu messende Emanationsmenge unter genau den gleichen Bedingungen zu messen wie eine aus einer geeichten Radiumlösung entnommene Emanationsmenge. Es ist also gleichgültig, welche Gefäße als Ionisationsraum dienen, es ist nicht nötig, die *Duane*sche Formel zu benutzen oder auf den aktiven Beschlag zu achten[2], wenn nur die beiden Messungen unter genau den gleichen Bedingungen gemacht werden. Auch die Kenntnis der Kapazität der Anordnung ist überflüssig. Die Eichung des Elektrometers braucht nur relativ zu sein, um den Normalverlust gut kontrollieren zu können.

Die Einführung der Curie-Einheit für die Emanation wird sich darum voraussichtlich durchsetzen. Bis jetzt waren Radium-Normallösungen schwer zu erhalten. Sie werden jedoch neuerdings von *Spindler & Hoyer* in den Handel gebracht. Damit diese Lösungen haltbar sind, müssen sie schwach mit Salzsäure angesäuert, in zugeschmolzenen Gefäßen aufbewahrt werden. Wegen Einzelheiten der betreffenden Messungen sei auf die Abhandlung von *H. W. Schmidt* und *H. Nick* verwiesen.[3]

Das Verhältnis der Curie-Einheit der Emanation zur elektrostatischen Stromeinheit (= 1000 *Mache*-Einheiten) ist öfter bestimmt worden. Der genaueste Wert dürfte 1 Curie = $2{\cdot}67 \cdot 10^6$ stat. Einheiten = $2{\cdot}67 \cdot 10^9$ *Mache*-Einheiten sein.[4] Wird die Emanation nach $3^1/_2$ Stunden also im Gleich-

---

[1]) Die Angabe des bloßen Voltabfalles ist leider noch immer nicht ganz aus der Literatur verschwunden. Sie kann nur für einen und denselben Apparat vergleichbare Werte liefern; dann können aber auch ebensogut nur die Skalenteile des Elektrometers angegeben werden. Für verschiedene Apparate sind nur die Ströme vergleichbar, deren Bestimmungsstücke Spannung, Kapazität und Zeit sind.

[2]) Am besten mißt man allerdings 3—4 Stunden nach Einfüllen der Emanation, weil dann die Aktivität durch den aktiven Beschlag nicht mehr steigt.

[3]) *Schmidt* und *Nick*, Physik. Zeitschr. Bd. **13**. S. 199 (1912).

[4]) *Flamm* und *Mache*, Mitt. d. Instituts f. Radiumforschung XIII. Wiener Akademie-Ber. S. 121. Februar 1912.

gewicht mit ihren Zerfallsprodukten gemessen, so ist 1 Curie = 6·02 . 10 [9] *Mache*-Einheiten.

Bei natürlichen Wässern kann manchmal die Frage vorliegen, ob die Aktivität außer durch Radiumemanation auch durch Thoremanation verursacht ist. Dies erkennt man daran, daß die Aktivität wegen des schnellen Zerfalls der Thoremanation sehr rasch sinkt (Halbwertszeit 54″). Man kann Thoremanation also nur bei schnellem Arbeiten unmittelbar an der Quelle wahrnehmen. Untersucht man den durch lange Exposition erhaltenen aktiven Beschlag, so findet man einen langsameren Abfall beim Thor (H.-Z. 11 Stunden) als beim Radium (H.-Z. $^1/_2$ Stunde).

Von den Lösungen radioaktiver Stoffe kommen hauptsächlich die Radiumlösungen und die Thoriumlösungen zur Verwendung. Radiumlösungen haben den Vorzug, daß ihre Aktivität eine dauernde ist. Es bildet sich in ihnen dauernd die Radiumemanation sowie Ra A, B, C, so daß die Wirkung aller dieser Strahlen mit der Lösung zur Verfügung steht. Thorium X-Lösungen haben ungefähr die gleiche Haltbarkeit wie Radiumemanation (Halbwertszeit von Thorium X = 3·6 Tage), so daß mit ihnen ebenso wie mit der Radiumemanation ein Effekt zur Verfügung steht, der nur eine bestimmte Zeit wirksam ist.[1])

Zu beachten ist, daß ein großer Teil der Strahlen in der Flüssigkeit absorbiert wird, besonders von den α- und β-Strahlen. Dieser Teil wird vermindert, wenn man der Flüssigkeit eine große Oberfläche gibt, sie also z. B. zerstäubt.

Starke Radiumlösungen können nach der γ-Strahlenmethode gemessen, d. h. mit einem Standardpräparate verglichen werden. Schwache Lösungen kann man nach der Emanationsmethode messen.

Thorium X-Lösungen werden eingedampft und die α-Strahlenaktivität gemessen. Spezielle Anweisungen siehe bei *J. Plesch*, *L. Karczag* und *Keetmann*.[2])

Literatur:

Die Hauptwerke über Radioaktivität sind:

E. Rutherford, Radioactive Substances and their radiations 1913. Es ist die Neuauflage des früheren Buches von *Rutherford*, Die Radioaktivität, von *Aschkinass* übersetzt; 1907. Die Übersetzung der Neuauflage erscheint demnächst.

Mme. *P. Curie*, Die Radioaktivität. Deutsch von *B. Finkelstein*. 2 Bände. Leipzig 1911.

F. Soddy, Die Chemie der Radioelemente. Deutsch von *M. Iklé*. Leipzig 1912.

[1]) Thorium X-Lösungen sind darum relativ billig.

[2]) *Plesch*, *Karczag* und *Keetmann*, Zeitschr. f. experimentelle Pathologie und Therapie. Bd. 12 (1912).

Gas- und Wasserbewegung in der Pflanze (Transpiration, Spaltöffnungsmechanismus, Wurzeldruck).

Von **Viktor Grafe**, Wien.

Zur Bestimmung der Transpiration[1], d. h. zur Feststellung der Abgabe von Wasserdampf durch unverletzte Pflanzenteile wurde eine Reihe von qualitativen und quantitativen Methoden ausgearbeitet. Die besten Resultate liefert die direkte Wägung und Bestimmung des Gewichtsverlustes innerhalb der Versuchsdauer.

Qualitative Methoden:

Am häufigsten gebraucht sind die Farbenänderungen hygroskopischer Salze bei Aufnahme von Wasser; am meisten Eingang in die Methodik hat die *Stahl*sche[2] Kobaltpapiermethode gefunden. Streifen gewöhnlichen Filtrierpapiers werden durch Eintauchen in eine 3—5%ige Lösung von $CoCl_2$ getränkt und nach Ausbreiten an der Luft im Exsikkator bis zur völligen Wasserabgabe getrocknet. Legt man einen solchen, nunmehr tiefblauen Streifen auf die zu prüfende Blattfläche, so färbt sich der Streifen je nach der Menge des abgegebenen Wasserdampfes früher oder später rot, so auf der spaltöffnungsreichen Unterseite oft schon nach wenigen Sekunden, auf der Oberseite langsamer. Durch sofortiges Bedecken des Streifens mit einer Glas- oder Glimmerplatte, die mit Klammern am Blatte befestigt wird, verhindert man möglichst den Zutritt der Luftfeuchtigkeit zum eingeklemmten Kobaltstreifen. Da das Kobaltpapier immerhin nicht sehr empfindlich ist, wäre vielleicht die Verwendung von PbJ_2-Lösung zur Imprägnierung von Papierstreifen vorzuschlagen; man erhält dieses Salz

---

[1]) Die gründlichste, umfassende Studie über Transpiration der Pflanzen besitzen wir in der ausgezeichneten Monographie von *A. Burgerstein*, „Die Transpiration der Pflanzen", Jena 1904. Hier ist auch das Methodische (S. 1—28) entsprechend gewürdigt; besonders wertvoll ist auch das ausführliche Literaturregister.

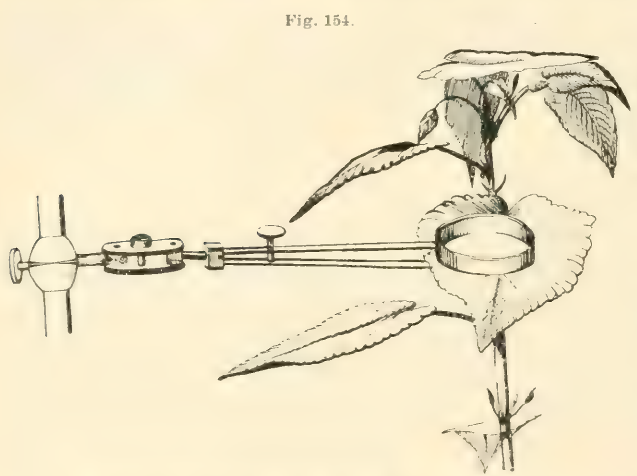
Die Zeichnungen, sämtlich von Herrn *J. Gicklhorn*, Assistenten am pflanzenphysiologischen Institute der Universität Wien durchgeführt, sind teils nach der Natur, teils nach den Originalabhandlungen, teils (stets im Vergleich mit [illegible]) nach dem genannten Werke *Burgersteins* gearbeitet.

[2]) Botan. Zeitung, Bd. 52, S. 117 (1894).

durch Fällen einer löslichen Bleiverbindung mit Jodkali. Mit einem Überschuß von Jodkali vereinigt es sich zu einem in farblosen Nadeln kristallisierenden Doppelsalz $KPbJ_3 + 2H_2O$, welches aus seiner Lösung durch Äther fällbar ist. Das Doppelsalz wird in seinem vierfachen Gewichte Azeton aufgelöst und mit dieser Lösung Filtrierpapier getränkt, das man im Exsikkator über Chlorkalzium trocknen läßt; Spuren von Feuchtigkeit färben solches Papier gelb, da das Doppelsalz durch Wasser zerlegt wird. Durch Befeuchten mit Azeton läßt sich dieses Reagenzpapier regenerieren, was der langdauernden Trocknungsmethode des *Stahl*schen Papiers gegenüber ebenfalls einen Vorteil bietet. Versuche, mit diesem Papier die Transpiration von Pflanzen schnell und bequem nachzuweisen, haben zu befriedigenden Resultaten geführt.

Bei *Stahls* Kobaltprobe wie auch bei manchen anderen pflanzenphysiologischen Experimenten ist es wünschenswert, das Reagenzpapier auf zwei einander vollkommen entsprechenden Flächen der beiden Blattseiten aufzulegen; man verwendet dazu mit Spangen verschlossene Uhrgläser u. dgl., besondere Genauigkeit, Raschheit und Bequemlichkeit des Arbeitens gewährt folgendes kleine, von *Ganong*[1]) angegebene Instrument (Fig. 154): Zwei gleichartige Messingringe, jeder von 3 *cm* Durchmesser und 5 *mm* Dicke, sind an den Enden paralleler, biegsam-elastischer Stäbe so befestigt, daß diese Ringe fest und genau Rand an Rand halten, wobei aber ihre Trennung durch eine Klemmschraube bis zu jedem gewünschten Maße möglich ist. Für jeden Ring sind zwei Zusatzringe vorgesehen. Einer von ihnen ist rechtwinklig geteilt und hält ein entfernbares Deckglas, so daß es, wenn es über den exponierten Rand des Messingrohres geschoben wird, den letzteren in eine glasgedeckte Kammer verwandelt. Wenn die $CoCl_2$-getränkten Filtrierpapierstreifen (zweckmäßig ein wenig breiter geschnitten als die Messingringe, haften sie in der Mitte zwischen ihnen und lassen sich gut ausspannen) in die Ringe gelegt und diese dann aufs Blatt gelegt werden, kann man die Farbenänderungen durch Transpiration mit

Fig. 154.



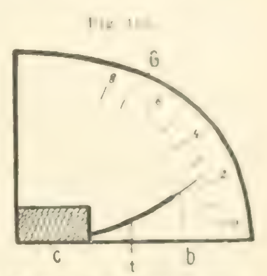
Ganongs Glaskammerhalter für *Stahls* Kobaltprobe.

[1]) *Ganong*, Botan. Gaz. Vol. **39**. p. 145 (1905).

größter Genauigkeit beobachten. Die Enge der Kammern gestattet, daß die Papiere, vom Blatt entfernt, ihren jeweiligen Zustand lange Zeit beibehalten, so daß man in aller Ruhe arbeiten kann. Der zweite Zusatzring ist geteilt und ist dazu bestimmt, Zinnfolie oder irgend einen anderen Stoff eng an den Kammerring zu halten. Wenn also vorspringende Blattadern eine hinlänglich enge Berührung von Kammer und Blattfläche verhindern, die für manche Zwecke nötig ist, kann durch den geteilten Ring ein dünnes Kautschukband gehalten werden, so daß es gegen das Blatt gepreßt wird und die Räume zwischen den Adern ausfüllt.

F. Darwins Horn-Hygroskopmethode[1]: *c* (Fig. 155) ist ein Korkstück (5 × 4 × 4 *mm*), auf dessen Unterseite ein Streifen von einem Rasiermessergriff aus gepreßtem Horn (ca. 8 *mm* lang und 3 *mm* dick) angekittet ist, *t*. Dieser stellt einen hygroskopischen Streifen vor, der an seinem freien Ende eine Borste *b* trägt, die auf einer Einteilung spielt. Das aus dem Rasiermesser quer durch den Strich geschnittene Hornmaterial wird vorher zwischen Glasplatten über einer Gasflamme erhitzt. Ein Quadrant *G* aus Pappendeckel ist an der Unterseite der Korkscheibe befestigt und trägt an der Krümmung die Skala. Wenn das Hygroskop sich auf einer trockenen Fläche befindet, so bleibt der Zeiger in Ruhe auf *0* stehen, auf einer transpirierenden Fläche dagegen, z. B. auf der spaltöffnungführenden Seite eines Blattes, krümmt sich der Zeiger sofort von der Feuchtigkeitsquelle weg und streicht dabei über die Skala. Der Vorteil des einfachen Instruments liegt darin, daß es in wenigen Sekunden ein Bild über die Transpiration gibt; es wird auch bei der später zu besprechenden Beurteilung des Offenseins oder Schlusses der Spaltöffnungen angewendet. Nach dem Grade der Abweichung ist auch ein Schluß auf die Größe der Transpiration möglich. *Darwin* hat eine Reihe von Transpirationsbestimmungen bei Ficus elastica gemacht, in welchen der Gewichtsverlust des transpirierenden Blattes in Milligramm mit den Hygroskopablesungen verglichen wurde:

Fig. 155.



F. Darwins Horn-Hygroskop.

27. August 1897.

Zeit	Verlust per 1 Stunde und 100 qcm	Mittelwert des Hygroskops
11^{15}—11^{35} a. m.	510	20
	265	[illegible]
12^{06}—12^{36} p. m.	169	[illegible]
	96	[illegible]
2^{03}—2^{33} p. m.	72	[illegible]
	60	[illegible]
3^{03}—4^{50} p. m.	24	[illegible]

---

[1]) Philos. Transact. B. Bd. 190. S. 533 (1898).

Januar 1898.

Zeit	Verlust per 100 cm^2 in der Stunde	Hygroskop
10^{30} a. m. – 10^{55} a. m.	216	15
10^{55} a. m. – 11^{40} a. m.	116	10
11^{40} a. m. – 12^{13} p. m.	61	5
12^{13} p. m. – 12^{43} p. m.	47	4
12^{43} p. m. – 2^{20} p. m.	23	2
2^{20} p. m. – 3^{22} p. m.	17	0

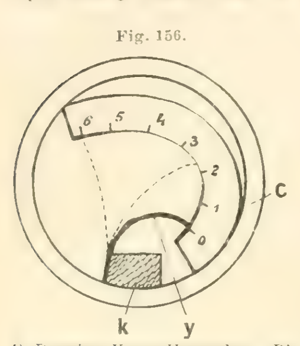
Das Hygroskop muß sehr sorgfältig gearbeitet sein, das Horn sorgfältig präpariert. Eine möglichst dünne Rasiermesserschale von gepreßtem und erhitztem Horn, das mit einer Drehbank quer durchschnitten wurde, ist notwendig. Die besten Schnittstücke werden ausgesucht, mit destilliertem Wasser befeuchtet und zwischen zwei Glasplatten ausgebreitet, die aneinander gepreßt werden. Das Horn wird so flach ausgespannt, während es sorgfältig über einer Gasflamme erhitzt wird. Die Scientific Instrument Cie., Cambridge, hat in der Regel ein Lager von brauchbarem Horn; sollte aber solches nicht erhältlich sein, so kann auch das Material (gehärtete Gelatine oder Celluloid), aus dem hygroskopisches Spielzeug, wie Fische etc., gemacht wird, verwendet werden, das aber freilich nicht annähernd so haltbar ist wie Horn. Bei Ausführung der Messung ist es ratsam, das Instrument nur wenige Sekunden auf dem Blatte zu belassen, weil sonst das Horn sich dauernd krümmt. Beim Ablesen ist es am besten, die Stellung des Zeigers nach einer bestimmten Frist, z. B. 10 Sekunden, abzulesen oder auch abzuwarten, bis der Zeiger zur relativ längsten Ruhe gelangt ist. Für die Beobachtung ist es zweckmäßig, das Blatt mit den Spaltöffnungen nach aufwärts auf einer horizontalen Unterlage durch kleine Metallgewichte zu befestigen. Sobald die Ablesung gemacht worden ist, muß das Hygroskop beiseite gestellt werden, bevor die nächste Beobachtung stattfinden kann. Der Zeiger krümmt sich oft mit der Zeit leicht, so daß der Nullpunkt oder die Differenzstrecke sich verschiebt. Es ist daher notwendig, jedesmal den Nullpunkt zu notieren und ihn von der Ablesung zu subtrahieren, so daß z. B., wenn die Ruhestellung des Zeigers auf 5 weist und die Ablesung bei der Bestimmung auf 30, der Versuchswert 25 beträgt. Die Hornunterlage des Instrumentes wirft sich bisweilen, die Blattfläche pflegt nicht eben zu sein, so daß der Zeiger oft eine plötzliche Bewegung ausführt, wenn das Instrument aufgesetzt wird. So ein Ruck ist aber leicht von der normalen Zeigerbewegung zu unterscheiden, denn wenn das Instrument abgehoben wird, kehrt der Zeiger nach einer regelrechten Aufrichtung allmählich zur Ruhelage zurück, dagegen plötzlich nach einem unregelmäßigen Ruck. Bisweilen ist es notwendig, das Hygroskop ganz leicht über die Oberfläche emporzuheben und einen dünnen Papierstreifen unter den Kork zu legen oder ein stärkeres Objekt unter das Eck des Papierquadranten; auf diese

Weise steht die Fehlerquelle des Ruckes unter Kontrolle, wenn auch auf Kosten der äußersten Grenze der Empfindlichkeit. Die bedeutendste Fehlerquelle der Methode besteht aber darin, daß der Zeiger immerwährend zu Abbiegungen geneigt ist, wogegen nur ein angemessener Vorrat neuer Instrumente hilft. Wenn das Mikroskop auf eine warme, aber trockene Fläche gestellt wird, erhebt sich der Zeiger ebenso als wäre die Oberfläche feucht; die Temperaturänderungen werden auch von anderen hygroskopischen Substanzen registriert. Jedoch ist diese Fehlerquelle praktisch nur für große Temperaturintervalle vorhanden und auch hier nicht unüberwindlich. *Darwin* führt folgenden Versuch aus: Um zu zeigen, daß die Spaltöffnungen sich schließen, wenn das Blatt abstirbt, wurde das Blatt zur Hälfte durch Darüberhalten über eine Gasflamme zum Einschrumpfen gebracht, die sofort vorgenommene Ablesung am Hornhygroskop zeigt, daß die Spaltöffnungen in der abgetöteten Hälfte scheinbar offen stehen, der Irrtum rührt daher, daß die Fläche noch warm ist, aber nach zwei Minuten, wenn das Blatt die Zimmertemperatur angenommen hat, zeigt sich diese Wärmewirkung nicht mehr: die Ablesung auf der toten Hälfte ist nunmehr 0, auf der lebenden so wie es der Öffnung der Stomata entspricht. Natürlich wird das Instrument auch durch die Luftfeuchtigkeit beeinflußt, aber diese Fehlerquelle fällt kaum ins Gewicht, außer bei annähernder Feuchtigkeitssättigung der Luft, und kommt um so weniger in Betracht, als ja meist nicht absolute, sondern Vergleichsbestimmungen gemacht werden. Ferner sollen die Bestimmungen bei möglichst ruhiger Luft, jedenfalls nicht bei starker Windbewegung gemacht werden, weil dadurch (durch das Herbeiführen immer neuer Luft) die Transpirationsgröße schnell wechselt. Das Hygroskop zeigt eigentlich bloß den Ort der Transpiration an, es ist aber deshalb so wertvoll, weil es, indem es die Länge des Weges der auf dem Horn aufgeklebten Haarspitze zahlenmäßig zu bestimmen erlaubt, auch approximativ verschiedene Öffnungsweiten der Stomata ergibt (*Molisch*); es bildet ferner einen Übergang zu den quantitativen Methoden, indem es, wenigstens bei vergleichenden Messungen, über die relative Weite der Spaltöffnungen etwas auszusagen erlaubt.

F. Darwins Yucca-Hygroskop (Fig. 156 und 156*a*): Wenn *Stahls* feuchtigkeitsempfindliches Papier unter eine Glasplatte gelegt wird, die auf der Oberfläche des Blattes befestigt ist, kann die Kobaltmethode sehr kleine Transpirationsgrößen anzeigen. Das Hornhygroskop dagegen kann als Indikator für die angesammelten Produkte der Transpiration nicht verwendet werden. Wollte man das Instrument unter jener auf der Blattoberfläche befestigten Glasdecke belassen, so würden die Ablesungswerte ab- statt zunehmen. Eine Zunahme von Wasserdampf zeigt dagegen das Yucca-Hygroskop an. Das Material besteht aus der getrockneten Epidermis von Yucca aloifolia; in trockener Luft ist es auf der einen Seite so konkav, daß es aussieht wie eine Papierrolle; in feuchter Luft rollt es sich sogleich auf, wird flach und rollt sich dann nach der entgegengesetzten Seite ein. Fig. 156 zeigt die Arbeitsweise mit dem Yucca-Hygro-

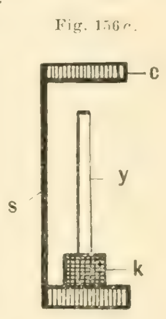
skop: *c* ist eine kleine Glaskammer (10 *mm* × 5 *mm*), wie sie für Pilzkulturen verwendet wird, an einem Ende mit einem Deckglas geschlossen (in Fig. 156 *a* ist die Decke *s* links, das offene Ende, das auf das Blatt zu liegen kommt, rechts). An der vertikalen Wand der Röhre ist ein Stückchen Kork *k* befestigt, welches einen Streifen der Yucca-Epidermis *y* trägt. Fig. 156 zeigt das Yucca-Hygroskop in der Aufsicht mit eingerollter Membran als in der Trockenstellung. Eine an der Glasbedeckung des Zylinders angeklebte Papierskala gestattet eine Messung der Formveränderung der Yucca-Membran. Auf ein, selbst nur sehr wenig transpirierendes Blatt gelegt, rollt sich die Membran sofort auf, indem sie von 0 bis 2 oder selbst bis 6 innerhalb weniger Sekunden wandert. Das Yucca-Hygroskop kann nur in trockenen Räumen verwendet werden, in feuchter Luft ist der Zeiger so stark aufgerollt, daß man das Instrument nicht verwenden kann. Da die Stellung des Zeigers nicht davon abhängt, ob die Luft auf der einen Seite der Membran mehr feuchtigkeitsgesättigt ist als auf der anderen, sondern einfach von dem Feuchtigkeitsgehalte der Luft, so ist es natürlich, daß es dazu dienen kann, um leichte Anhäufung von Dampf anzuzeigen. Die Empfindlichkeit des Yucca-Hygroskops ist nicht immer von Vorteil; es ist leicht, damit die Transpiration von spaltöffnungslosen Oberflächen zu messen und deshalb ist man, bei kleinen Transpirationswerten, nie sicher, wieviel von stomatärer und wieviel von kutikularer Transpiration herrührt. Bei dem folgenden, von *Darwin* beschriebenen Beispiel war die kutikulare Transpiration praktisch gleich 0 und eine sehr geringe stomatäre Transpiration war nachweisbar. Zwei Epheublätter wurden 19 Stunden lang nach dem Abpflücken welken gelassen und Yucca-Hygroskope dann mit Wachs auf der Ober- und Unterseite befestigt, eine Bewegung des Zeigers erfolgte nur an dem auf der Unterseite befindlichen Instrument, also als Ausdruck der Spaltöffnungstätigkeit. Dasselbe wäre auch durch die Kobaltprobe oder durch Wägung gezeigt worden, nicht aber durch das Hornhygroskop. Die Kobaltprobe ist von *Stahl* nach zwei Richtungen ausgewertet worden, nämlich um den Effekt bei Blättern, die vollkommen zwischen Glasplatten eingeschlossen waren, in ein bis zwei Minuten zu erkennen oder in der Weise, daß das Reagenzpapier von einem kleinen auf dem Blatte befestigten Gefäß bedeckt war. Diese beiden Anwendungsarten analogisieren im großen ganzen das Horn- und das Yucca-Hygroskop, wobei jedoch zu bemerken ist, daß das erstere empfindlicher ist als die Kobaltmethode, wogegen zugunsten dieser ins Gewicht fällt, daß Beobachtungen, welche

Fig. 156.



F. Darwins Yucca-Hygroskop. Die gestrichelten Linien zeigen die sukzessive Aufrollung des Yucca-Streifens infolge Feuchtigkeit.

Fig. 156 *a*.



F. Darwins Yucca-Hygroskop in der Aufsicht.

mit einer bestimmten $CoCl_2$-Lösung und einer bestimmten Filtrierpapiersorte angestellt wurden, vergleichbarer sind als die Ablesungen mit zwei Hygroskopen, daß ferner die Herstellung Haltbarkeit und Manipulation des Kobaltpapieres leichter ist. Ein Blatt der Gartenchrysantheme gab auf Kobaltpapier zum Teil einen roten Abdruck, während der andere Teil des Papieres blau blieb; die Ablesung des Hornhygroskopes ergab für die blauen Partien die Zahl 7, für die roten 15, d. h. also das Hornhygroskop zeigt noch Transpiration in dem Teile des Blattes an, welcher Kobaltpapier unverändert blau ließ. Die Erhärtung der Ergebnisse aller Methoden erfolgt schließlich durch Wägung. So, wenn z. B. ein Blatt auf seiner spaltöffnungsführenden Oberfläche mit Wachs bekleidet ist, Wägung ergibt die Verdunstung seitens der Kutikula und so ist eine Korrektur der Wägungen eines Blattes möglich, das auf der stomatalosen Fläche mit Wachs bedeckt ist. Natürlich gewinnt man so nicht absolut genaue Werte, aber immerhin die besterreichbaren. *Darwin* klassifiziert die Empfindlichkeit der verschiedenen Methoden folgendermaßen: 1. Vergleichende Wägung, 2. Yuccahygroskop und Kobaltmethode (bei langdauernder Exposition), 3. Hornhygroskop, 4. Kobaltmethode (kurze Exposition), 5. mikroskopische Untersuchung des unverletzten Blattes. Die mikroskopische Methode ist von *Lloyd*[1]) modifiziert worden, indem die Oberhaut vom lebenden Blatte abgezogen, ganz kurz in absoluten Alkohol eingetaucht und dann unter dem Mikroskop betrachtet wird. Diese Arbeitsweise, welche hauptsächlich bisher bei Fouquiera splendens und Verbena ciliata erprobt wurde, soll an der toten, fixierten Epidermis genau die Spaltenweite fixieren, welche am lebenden Blatte im Momente des Abtötens vorhanden war.

F. Darwin und *D. F. M. Pertz*[2]) beschrieben einen weiteren leistungsfähigen einfachen Apparat zur Beurteilung der Spaltöffnungsweite, das Porometer (Fig 157 und 157 *a*): Eine kleine glockenförmige Glaskammer *C* mit breitem Rand wird auf der spaltöffnungsführenden Fläche des Blattes L befestigt. Ein Kautschukschlauch verbindet *C* mit einem T-Rohr (*T*) aus Glas, dessen langer Schenkel graduiert ist und in ein Gefäß mit Wasser, *F*, taucht. Der kurze Schenkel links trägt einen Kautschukschlauch, der durch die Klammer *M* verschließbar ist. Nachdem die Glaskammer auf dem Blatte (mit Gummi) angekittet ist, wird in der Richtung des Pfeiles angesaugt und dann der Quetschhahn *M* geschlossen, wodurch aus dem Wassergefäß eine Wassersäule, etwa bis *A*, emporsteigt. Durch die Spaltöffnungen wird in den luftverdünnten Raum in *C* Luft eingesaugt und die Wassersäule fällt bis zu Punkt *B*. Durch wiederholtes Ansaugen kann die Wassersäule wieder zum Steigen gebracht und die Beobachtung beliebig oft wiederholt werden. Die Zeit, welche verstreicht, während die Säule etwa von *A* nach *B* sinkt, wird notiert und so eine

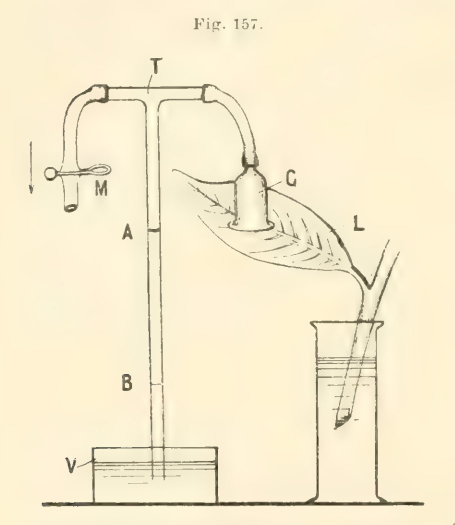
---

[1]) *F. E. Lloyd*, Carnegie Institution Washington 1908 Publication [illegible]

[2]) *F. Darwin* and *M. Pertz*, Proceed. of the r. Soc. B. Vol. 84. p. 136 (1911).

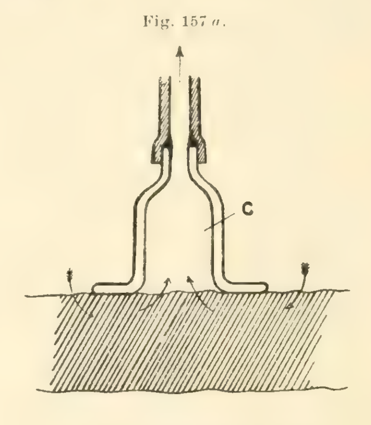
Reihe von Ablesungen, die zur Bestimmung des Absinkmaßes beim Mitteldruck $^1/_2$ $(A + B)$ dienen. Das Mittel ist gewöhnlich 20 *cm* Wassersäule, indem das Absinken des Meniscus zeitlich zwischen 23—17 *cm* oder 22—18 *cm* begrenzt wird, wie es eben am bequemsten ist. Das Kaliber der Röhre ist gewöhnlich so gewählt, daß 1 *cm* Länge 0·1 cm^3 entspricht. Es ist klar, daß, wenn aufeinanderfolgende Ablesungen bei einem bekannten Mitteldruck gemacht wurden, eine Verminderung der Spaltöffnungsweite die Wassersäule langsamer von A nach B sinken lassen wird. Die Zahl der Sekunden, welche beim Fallen der Wassersäule um eine bestimmte Höhe abgelesen werden, gibt also geradezu die relative Weite der Spaltöffnungen an. Die beste Methode, die Glaskammer luftdicht und gleichzeitig ohne Schädigung des Blattes darauf zu be-

Fig. 157.



Porometer von *F. Darwin* und *D. F. Pertz.*

Fig. 157 *a.*



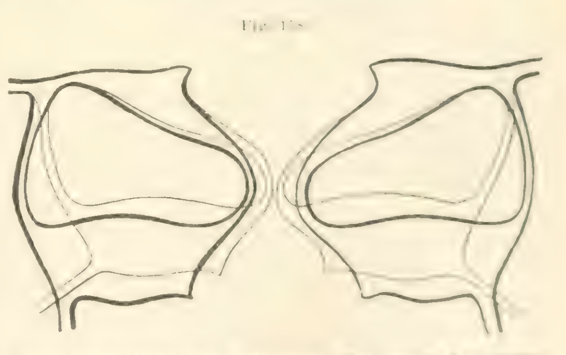
Die auf das Blatt aufgekittete Glaskammer *c* vergrößert.
Porometer von *Darwin* und *Pertz.*

festigen, ist gewöhnlicher Leim, welcher sowohl am Glas als auch an der Blattfläche haftet und diese kaum schädigt. Der Leim wird auf ca. 30° C abkühlen gelassen und dann dick auf dem Kammerrand aufgetragen, der sodann sanft auf die spaltöffnungsreiche Unterseite des Blattes aufgedrückt und befestigt wird, wobei das Blatt auf einer horizontalen Glasplatte adjustiert ist. Eine andere Methode besteht darin, aus einer Lage 20—25%iger Gelatine einen Ring, d. h. eine durchbohrte Scheibe von ca. 1 *cm* Dicke auszustechen und die Kammer fest auf den Ring niederzupressen und in dieser Lage zu befestigen. Hier muß das Blatt mit der Spaltöffnungsseite nach oben gerichtet und durch eine horizontale Glasplatte gestützt werden. Dieses Verfahren eignet sich besonders für lederartige Blätter wie die von Ficus elastica, Prunus laurocerasus, Hedera helix etc., welche selbst beim Zusammenpressen zwischen Gelatine und Glasplatte nicht leiden; übrigens kann man mit der nötigen Vorsicht auch zartere Blätter diesem Verfahren unterziehen. Glyzerinzugabe zur Gelatine

erweist sich als schädigend, ebenso Vaseline oder andere Substanzen wie Fette etc. Die Porometermethode ist als eine direkte mit der mikroskopischen Probe zu vergleichen, indem bei beiden Methoden Werte sich ergeben, in welchen der durch die Stomata ziehende Gasstrom in keiner Weise durch den Wasserdampf beeinflußt ist, der durch dieselben Öffnungen dringt. Die eben beschriebene Methode ist also scharf von der hygroskopischen zu trennen, sie dient **nicht** zur Messung der Transpirationsgröße, sondern mißt die jeweilige Weite der Spaltöffnungen, die durch die hygroskopischen Methoden nur indirekt angegeben wird, wobei Änderungen der Öffnungsweite nur in sehr großen Zügen offenbar werden. Mit den genannten Methoden teilt das Porometer den großen Vorzug, eine kontinuierliche Methode zu sein, d. h. zu gestatten, daß ein Blatt durch längere Zeit beobachtet wird. Ferner beobachtet man hier das lebende Objekt, während bei *Lloyds* Verfahren das tote Blatt zum Versuche dient, wobei überdies jedem Versuche ein Blatt geopfert werden muß. Ein fernerer Vorteil des Porometers ist seine große Leistungsfähigkeit. Die Größe des Gasstromes kann in einem beleuchteten Blatt jene des verdunkelten Blattes um das Vierhundertfache übertreffen. *Darwin* hatte Gelegenheit, mit dem viel empfindlicheren Porometer Ergebnisse zu bestätigen, die er Jahre vorher mit den hygroskopischen Methoden über das Welken von Blättern gemacht hatte, bei denen die Stomata offensichtlich noch lange offen waren, nachdem das Blatt aufgehört hatte, mit dem Hornhygroskop zu reagieren.

Ein großer Vorteil des *Lloyd*schen Verfahrens besteht darin, daß es **absolute** Werte liefert, d. h. es zeigt die wirkliche Weite der Spaltöffnung, während das Porometer nur relative Zahlen ergibt. *Lloyd*s Methode leidet dagegen an dem Übelstande, daß an einem gegebenen Blatte und in einem gegebenen Zeitpunkt die Spaltöffnungen von 1 bis zu 10 Einheiten im Durchmesser wechselnd gefunden werden. Und da es unmöglich ist, auf jede Bestimmung unbegrenzte Zeit zu verwenden, so folgt daraus, daß *Lloyd*s Bestimmungen der Spaltöffnungsgrößen ziemlich ungenau sind. Das Porometer dagegen umfaßt in seinen Angaben einen Durchschnittswert von vielen hundert Spaltöffnungen bei jeder Ablesung; nun ist an einem gegebenen Zweige zu einer gegebenen Zeit, bei den verschiedenen Blättern eine Vielheit von Spaltöffnungen in den verschiedensten Zuständen der Öffnungsweite vorhanden (Fig. [illegible]

Fig. [illegible]



Modell des Spaltöffnungs-[illegible]

Jeder Vergleich zwischen Transpiration und Spaltöffnungsweite, wenn er durch den Befund des Luftstromes an einem einzigen Blatt gezogen wurde, ist unzutreffend, da die Transpiration eines Zweiges von der durchschnittlichen Öffnung der Stomata bei einer Anzahl von Blättern abhängt, während der Wert des Luftstromes von dem Verhalten des einzelnen Blattes abhängt. Daher müssen, wie *Lloyd* selbst hervorhebt, bei seiner Methode zahlreiche Blätter geprüft werden.

Infiltrationsmethode von *H. Molisch* (Fig. 159): Die von *Molisch* [1]) beschriebene Methode, welche heute wohl als die leistungsfähigste bezeichnet werden muß, beruht auf dem Gedanken, daß es möglich sein müsse, das Offensein der Spaltöffnungen dadurch zu demonstrieren, daß man auf die Stomata führende Epidermis Tropfen von Flüssigkeiten bringt, die rasch in sehr kleine Kapillaröffnungen einzudringen vermögen, wie sie durch die Spalten der Spaltöffnungsapparate repräsentiert werden. Die Flüssigkeiten, welche durch die Spalten rasch in die Atemhöhle und von hier aus in die Interzellularen des Schwammparenchyms des Blattes eintreten, infiltrieren also das Blattgewebe an der betreffenden Stelle, welche dann im auffallenden Lichte dunkel und im durchfallenden durchscheinend aussieht. Sind die Stomata geschlossen, dann unterbleibt natürlich die Infiltration. Das ist in sehr schöner Weise z. B. bei Verwendung von absolutem Alkohol der Fall, welcher binnen wenigen Sekunden in die Spalten eindringt und das Blatt in obenbezeichneter Weise infiltriert. *Molisch* arbeitet in der Weise, daß aus einem kleinen Stiftfläschchen durch den Stift oder durch eine Glasröhre der Tropfen auf das Blatt gebracht wird, wobei aber jede unsanfte Berührung und damit eventuell einhergehende Verwundung des Blattes unterbleiben muß. Als Folge der Infiltration zeigen sich entweder zahlreiche dunkle zerstreute Punkte oder größere zusammenfließende resp. getrennt bleibende Inseln oder schließlich ein momentanes Dunkelwerden der ganzen vom Tropfen bedeckten Fläche. Sehr gute Resultate lieferten die turgeszenten, im starken diffusen oder direkten Sonnenlicht

Fig. 159.



Infiltrationsmethode von *H. Molisch*. Das Tropaeolumblatt war mit einer Schablone überdeckt worden, in welche das Wort „Licht" ausgestanzt ist; ins Licht gebracht, erweist sich die Transpiration der belichteten Stellen stärker und die nachfolgende stärkere Infiltration der dort befindlichen, weiter geöffneten Spaltöffnungen zeigt sich daran, daß eben das Wort „Licht" in der helleren Umgebung dunkel hervortritt.

[1]) *H. Molisch*, Zeitschr. f. Bot. Bd. 4. S. 107 (1912).

befindlichen Blätter von Syringa vulg., Stellaria media, Papaver somniferum, Senecio vulg., Plantago major, Urtica urens etc. Ein viel empfindlicheres Reagens als absoluter Alkohol ist Benzol, Xylol oder Terpentinöl, denn der Alkohol vermag unterhalb einer gewissen Spaltöffnungsweite nicht mehr einzutreten, die anderen genannten Flüssigkeiten aber wohl, wobei sehr oft das Xylol an Leistungsfähigkeit das Benzol übertrifft. Wenn der kapillare Widerstand einer zu engen Spalte das Eintreten auch dieser Flüssigkeiten unmöglich macht, dann sind die Spalten als praktisch geschlossen zu betrachten. Äther und Chloroform sind wegen ihrer allzu großen Flüchtigkeit, die namentlich beim Arbeiten im Freien die Infiltration nur sehr kurze Zeit andauern läßt, nicht zu empfehlen. Zunächst wird mit Alkohol geprüft, dringt dieser nicht ein, so sind die Spalten jedenfalls nur wenig offen, man geht dann mit dem nächst feineren Indikator, Benzol oder Xylol vor, die durch ihr eventuelles Eindringen zeigen, daß die Spaltöffnungen doch, wenn auch nur wenig offen waren. Dabei ist ein Vorteil, daß Alkohol, wenn er nicht durch die Spalten eindringt, das Blattgewebe eine kleine Zeit unbeschädigt läßt, während Xylol, Benzol, Terpentinöl die Epidermiszellen sehr schnell töten, auch wenn sie nicht durch die Spalten eindringen. Dieses Durchdringen durch die geschlossene Wand der Oberhaut kann aber kaum zu einer Fehlerquelle werden, da sich die Infiltration durch die Spaltöffnungen sofort oder wenigstens nach sehr kurzer Zeit zeigt, während das Durchdringen durch die Oberhaut doch etwas länger in Anspruch nimmt, so daß man beides, besonders bei einiger Übung, leicht auseinander halten kann. Charakteristisch ist, daß beim Alkohol die Infiltration die vom Tropfen bedeckte Fläche kaum jemals überschreitet, wohl aber bei Benzol, Xylol und ähnlichen Flüssigkeiten.

Die großen Vorteile der Methode sind ihre Einfachheit, die Tatsache, daß die Frage nach dem Offen- und Geschlossensein der Spaltöffnungen augenblicklich beantwortet, ad oculos demonstriert und auch der Grad des Offenseins durch die verschiedenen Indikatoren angegeben wird. Über die Transpiration der Blätter allerdings sagt die Methode ebensowenig aus, wie *Darwins* Porometer. Die Hygroskopmethode und die Kobaltprobe weisen also direkt auf die Transpiration hin. *Molischs* Infiltrationsmethode läßt das Offen- oder Geschlossensein der Spaltöffnungen erkennen und steht darin in einer Parallele mit *Darwins* Porometer, dessen Angaben ebenfalls von der Transpiration unabhängig und lediglich abhängig sind von der relativen Weite der Spalten; dabei ist aber zu bemerken, daß die Infiltrationsmethode einfacher ist und kein Instrument erfordert. Ferner kann das Offen- oder Geschlossensein der Spaltöffnungen sogar am trockenen, toten Blatte damit erkannt werden, während die Kobalt- und Hygroskopmethode in solchen Fällen natürlich ganz versagt, dagegen können geringe Differenzen in der Spaltenweite nicht angezeigt werden, während das mit dem Porometer möglich ist. Auf der Infiltrationsmethode von *Molisch* baut *E. Stein*[1] eine Erweiterung derselben auf, indem er die Reihe Petrol-

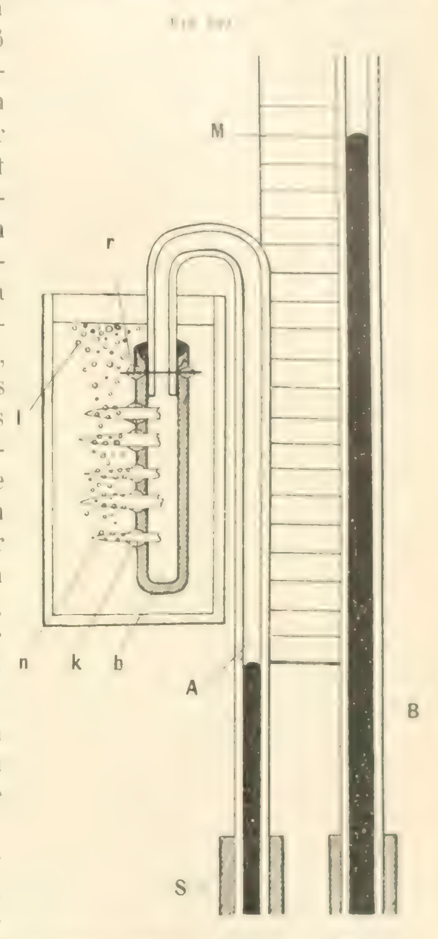
[1] *E. Stein*, Ber. d. deutschen bot. Ges. Bd. 30, S. 66 (1912).

äther, Petroleum und Paraffinum liquidum benützt, welche Kohlenwasserstoffe infolge ihrer verschiedenartigen Viskosität die Öffnung der Spalten in drei Abstufungen beobachten läßt. Dringt Paraffin ein, so ist das ein Zeichen der außerordentlich weit geöffneten Stomata; dringt Paraffin nicht, wohl aber Petroleum ein, so ist die Öffnung eine mittlere. Petroläther endlich dringt durch noch stärker verengte Spalten. Es ist also hier die Beobachtungsgrenze etwas weiter gesteckt, indem Paraffin in Spaltöffnungen nicht mehr eindringt, die für absoluten Alkohol geöffnet sind, während Petroläther noch den Weg in Interzellularen findet, die für Benzol und Xylol nicht mehr zugänglich sind; die für das Eindringen von flüssigem Paraffin nötige Spaltenweite wird überhaupt nicht von den Schließzellen aller Pflanzen erreicht. Auf der Infiltrationsmethode beruht auch *F. W. Negers*[1]) abgekürzte Jodprobe zum Sichtbarmachen der Assimilationstätigkeit. Bei Koniferennadeln ist es infolge ihrer Dicke nicht möglich, eine Infiltration mit Alkohol, Xylol etc. zu beobachten. Bringt man eine Lösung von wenig Jod in Äther auf die Unterseite eines Laubblattes, so findet, wenn die Spaltöffnungen offen waren, Infiltration statt und nach vorhergegangener Assimilation intensive Blaufärbung, wobei allerdings auch bei reinem Lösungsmittel (ohne Jod) eine Dunkelfärbung auftritt, die aber zum Unterschied von der Stärkefärbung nach kürzester Zeit wieder verschwindet. Diese Jodprobe gelingt nur bei vollkommen entwickelten Blättern (wie erwähnt nicht bei immergrünen Nadelhölzern), wenn die Spaltöffnungen offen stehen; durch diese Probe kann also das verschiedene Verhalten frischer und welkender Blätter (vorausgesetzt daß das Blattgewebe hinreichend stärkehaltig war) gegenüber einer Infiltrationsflüssigkeit einem größeren Zuhörerkreis sichtbar gemacht werden. Hatten die Spaltöffnungen den aufgetragenen Tropfen der Jod-Ätherlösung nicht passieren lassen, so genügt es, mit einer Nadel die Blattunterseite leicht zu ritzen, um bei Wiederauftragen eines Tropfens des Reagens intensive Dunkelblaufärbung eintreten zu sehen.

Eine Methode zum Infiltrieren auch von Koniferennadeln veröffentlichte *A. Dengler*[1]) (Fig. 160): Ein etwa 10 *cm* langes, an einem Ende zugeschmolzenes Stück Bleirohr, das 0·8 *cm* lichte Weite und zirka 2·6 *mm* Wandstärke hat, wird mit der Klinge des Taschenmessers auf der einen Seite mit etwa sechs kleinen Schlitzen versehen, welche dazu dienen, die zu untersuchenden Nadeln mit etwas Spielraum aufzunehmen; die Wände des Schlitzes werden zur besseren Adhäsion etwas aufgerauht und die äußere Mündung des Schlitzes nach außen etwas trichterförmig erweitert, damit der Kitt, mit dem die Nadeln später befestigt werden, gut zusammengedrückt werden kann. Dann wird der Kitt — am besten das in den Apotheken in Stangenform erhältliche Bleipflaster, das sich in der warmen Hand gut kneten läßt und nach dem Erstarren erheblichen Druck aushält — in die Schlitze fest eingedrückt, in den Kitt mit einer kleinen

[1]) *F. W. Neger*, Ber. d. deutschen bot. Ges. Bd. **30**, S. 93 (1912).

Lanzette ein Spalt gestoßen und die zu untersuchende an ihrer Basis gekappte oder angestochene Nadel, die frisch abgepflückt worden ist, so in den Spalt geschoben, daß die geöffnete Stelle sich im Hohlraum der Röhre befindet. Mit Hilfe eines Modellierreifens wird dann der Kitt zu beiden Seiten der Nadel und besonders nach untenhin sorgfältig abgedichtet, so daß beim späteren Untersuchen keine Luftblasen durch etwaige Undichtigkeiten des Kittes aufsteigen; wäre das der Fall, müßte die betreffende Stelle mit Filtrierpapier abgetrocknet und nachgedichtet werden. Das Bleirohr mit den Nadeln wird dann durch einen Druckschlauch mit einer Druckpumpe (etwa wie sie zum Aufpumpen von Fahrradschläuchen verwendet wird) verbunden, bei welcher die Führungsstange des Kolbens mit Marken versehen und bis zu einer bestimmten Marke hineingeschoben wird. Je nach dem Zustande des Spaltöffnungsapparates erfolgt nun bei der Kompression ein größerer oder geringerer Austritt von Luftblasen an der spaltöffnungsführenden Nadelfläche, den man beim Untertauchen in einer flachen Schale mit Wasser, mit Auge oder Lupe verfolgen kann. Die einzelnen Stufen der Blasenbildung wären dann mit Hilfe einer ad hoc festzusetzenden Skala einzuschätzen, nachdem eine Zählung der Luftblasen, die bei einem bestimmten Druck auf der Nadeloberfläche erscheinen, nicht möglich ist, weil sie sich sehr schnell ablösen, zerfließen, zerplatzen, weil es ja ferner nicht nur auf die Zahl, sondern auch auf die Größe der Blasen ankommt. *Dengler* bildet sechs Stufen, von 0 an, wo keine Blase auftritt, über Stufe 4, bei der die Nadel ganz dicht mit Blasen bedeckt ist, und Stufe 5, wo außer dieser Blasenbedeckung noch ein lebhaftes Perlen auftritt, bis zu Stufe 6, dem Maximum dieser Erscheinungen.



[illegible]

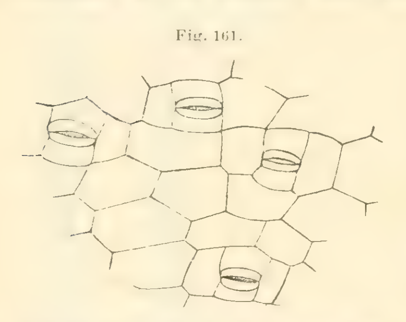
---

[1]) *A. Dengler*, Ber. d. deutschen bot. Ges. Bd. **30**, S. [illegible] (1912) [illegible] ebendas. Bd. **30**, S. 179 (1912).

während auf Stufe 1 nur wenige kleine Blasen auftreten; auf Stufe 2 erscheint dann etwa die Hälfte der Blasenanzahl, welche bei voller Bedeckung auftreten würde; natürlich kann man zwischen diese Stufen noch Zwischenglieder einschalten. Diese sehr bedenkliche Unsicherheit, welche in der subjektiven Schätzung gelegen ist, sucht *Dengler* dadurch zu vermeiden, daß er das Bleirohr nicht mit einer Druckpumpe, sondern mit einem Quecksilbermanometer verbindet, dessen Schenkel durch einen dickwandigen Kautschukschlauch zusammenhängen und gegeneinander verschiebbar sind. Dadurch kann man in dem einen Schenkel einen beliebigen Überdruck erzeugen und dessen Ausgleich auf dem Wege durch die Spaltöffnungen zeitlich messen; an einem zwischen den beiden Manometerschenkeln angebrachten Maßstab kann man die Höhe des Überdruckes bestimmen; so wäre also ein zahlenmäßig darstellbares Maß für die Durchlässigkeit und damit für die Öffnungsweite der Spaltöffnungen gegeben. Es ist klar, daß diese Methode nur bei großer Übung im Abschätzen und nur für Vergleichswerte ein brauchbares Ergebnis liefern und hauptsächlich dort Dienste leisten wird, wo es sich darum handelt, Resultate, die mit anderen Methoden gefunden wurden, zu überprüfen; ihre besondere Verwendbarkeit liegt ferner dort, wo die einfache und sichere Infiltrationsmethode von *Molisch* keine Anwendung finden kann, also bei den Koniferennadeln.

Das Verfahren von *L. Buscalioni* und *G. Pollacci*[1]) beruht auf der Fähigkeit der im Alkohol oder Äther aufgelösten Nitrozellulose (Kollodium), bei Berührung mit Spuren von Wasser auszufällen (Fig. 161). Es wird eine verschieden starke Lösung von Kollodium in Alkohol oder Äther verwendet, da es auf die Natur des transpirierenden Organs (Dicke der Kutikula, Zahl der Spaltöffnungen etc.) ankommt, ob das Kollodium kürzere oder längere Zeit flüssig bleibt. Die Lösung wird mit einem Pinsel auf die zu prüfende Organoberfläche in dünner Schicht aufgetragen, frei von Luftblasen; in wenigen Minuten ist bei Zimmertemperatur das Lösungsmittel des Kollodiums verdunstet, das Reagens bildet dann ein trockenes Häutchen, welches das Organ genau in dem Zustande bedeckt, in welchem es aufgetragen worden war und ihm anhaftet, aber mittelst einer Pinzette mit Leichtigkeit abgezogen werden kann; das Lostrennen erfolgt übrigens bei der Zusammenziehung des Häutchens von selbst. Während des Eintrocknens des Kollodiums beobachtet man, daß, wenn das untersuchte Organ

Fig. 161.



Kollodiumhäutchen mit der genauen Abmodellierung des Blattreliefs. Das Kollodium wurde nach der Methode von *Buscalioni* und *Pollacci* auf das Blatt aufgepinselt und das erstarrte Häutchen nach kurzer Zeit abgezogen; es zeigt bei mikroskopischer Betrachtung u. a. die jeweilige Spaltenweite.

[1]) *L. Buscalioni* e *G. Pollacci,* Atti di R. Istituto Botanico dell' università di Pavia. Vol. **7** (1901).

wenig oder gar nicht transpiriert, das Häutchen durchscheinend bleibt, während es bei einigermaßen vor sich gehender Transpiration bald eine milchähnliche Färbung annimmt, die um so intensiver wird, je stärker die Wasserabgabe erfolgt. Das Abnehmen der Häutchen ist schwieriger und mitunter nicht ohne Zerreißen möglich, wenn die Oberfläche des betreffenden Organs rauh, haarig od. dgl. ist. Um gute Resultate zu erhalten, muß man mit verschieden konzentrierten Lösungen arbeiten, außerdem ist es unter manchen Verhältnissen gut, die kollodiumbestrichenen Organe einige Zeit in einem luftverdünnten und mit Ätherdampf erfüllten Raume zu halten, um das Austrocknen des Kollodiums zu verzögern.

Die Kollodiumhäutchen können nunmehr der mikroskopischen Untersuchung unterworfen werden, sie tragen den genauen Abdruck des Gewebes, an dem sie gehaftet hatten und gestatten somit die Erkennung des Zustandes, in welchem sich die transpirierenden Organe im Momente des Auftragens des Häutchens befunden hatten. Das Häutchen wird auf einem Objektträger aufgespannt und dieser ganz mit einem Deckglas bedeckt, das den Zweck hat, das Häutchen anzuspannen; das Einschließen in Wasser oder eine andere Flüssigkeit unterbleibt besser.

Quantitative Methoden.

Am besten ist es, die gesamte Versuchspflanze vor und nach dem Versuch zu wägen und aus der Gewichtsdifferenz auf die Menge des verdunsteten Wassers zu schließen. Hierbei sind einige Vorsichtsmaßregeln zu beachten: vor allem muß dafür gesorgt werden, daß die mechanische Verdunstung des Wassers aus dem Kulturgefäße und aus der Kulturerde möglichst ausgeschlossen sei, am besten ist es, Glasgefäße oder solche aus glasiertem Steingut ohne durchlochte Bodenplatte zu verwenden, poröses Tongeschirr kann man durch Eintauchen in geschmolzenes Paraffin leicht luftdicht machen. Natürlich muß auch der Kulturboden selbst gegen Verdunstung geschützt sein, was am leichtesten durch Belegen mit Stanniol oder Guttapercha geschieht; freilich kann durch bleihaltiges Stanniol eine Schädigung der Kulturpflanzen erfolgen. Die Öffnungen, welche zwecks Durchtretens des Stammes oder wenn es sich um Keimpflanzen handelt, zum Einstecken des Würzelchens beim angekeimten Samen in den Nährboden, in die Bodenbedeckung gebohrt werden müssen, können mit Vaselin oder Paraffin verschmiert werden. Ich habe mit Vorteil Weichparaffin zur Bedeckung des Bodens benützt, welches sogar über die Kulturerde im Gartentopf gegossen werden kann, wenn schon die Pflanzen eingewurzelt sind, denn eine Temperatur von höchstens 40° C, bei welcher das Paraffin noch gießbar ist, schädigt die Pflanzen keineswegs und das Weichparaffin, welches leicht knetbar ist, läßt sich leicht ins Loch an den betreffenden Pflanzenteil andrücken, so daß ein absolut dampfdichter Verschluß geschaffen ist. Kann man den Boden vor dem Einsetzen der angekeimten Samen mit dem Paraffin übergießen, so sticht man in die Decke mit einer Nadel beliebig weite Löcher, setzt die Pflanzen ein und drückt, am besten

nach einigen Tagen, wenn sich die Pflanzen erhoben haben, das Paraffin so zurecht, daß die kleine Öffnung vollkommen verschmiert ist. Bei Wasserkulturen erfolgt der Abschluß der verdunstenden Wasseroberfläche gewöhnlich mit einer 3—4 *cm* hohen Schichte von Olivenöl (Fig. 162). Abgesehen davon, daß unter dieser Schichte die Wurzeln bei halbwegs länger andauernden Versuchen unter Sauerstoffmangel leiden, dringt das Öl doch auch nach relativ kurzer Zeit in die Pflanze. Zweckmäßiger ist es, nach dem Vorgange *J. Gicklhorns* die Bedeckung des Kulturglases nicht, wie das gewöhnlich geschieht, mit Organtin, sondern mit Leinwand vorzunehmen (Fig. 163), die in geschmolzenes Paraffin getaucht worden war; in der so imprägnierten Leinwand sind alle Gewebemaschen ausgeprägt. Die nunmehr ziemlich starre Leinwand wird uhrglasförmig eingebogen, auf die Öffnung des Kulturglases (Einsiedeglas) aufgelegt und entweder an den überhängenden, nicht imprägnierten Rändern mit Bindfaden fest um die Einkerbung des Glases gelegt oder mit Vaselin an den Glasrändern gedichtet. In die Leinwand werden mit der Nadel Löcher gestoßen und durch diese die Würzelchen der angekeimten Samen in die Nährlösung eintauchen gelassen. Das verdunstende Wasser kondensiert sich an der undurchdringlichen Paraffinschicht und tropft wieder zurück; dasselbe Verfahren dient auch zweckmäßig für die gewöhnliche Wasserkultur, um das lästige Nachfüllen von Wasser zu ersparen, besonders aber dann, wenn es sich darum handelt, keine wesentlichen Konzentrationsänderungen der Nährlösung Platz greifen zu lassen.

Fig. 162.



Eprouvette mit in Nährlösung steckendem Sprosse, deren Oberfläche mit Olivenöl bedeckt und so vor Verdunstung geschützt ist.

Fig. 163.



Wasserkultur. Das Einsiedeglas ist nach *Gicklhorn* mit paraffingetränkter Leinwand zur Verhinderung von Verdunstung aus der Nährlösung bedeckt.

Wenn man Topfpflanzen aus ihrem Kulturboden in das auf die Wage zu stellende Gefäß überträgt, resp. die Erde samt der darin wurzelnden Pflanze, so darf das nicht unmittelbar vor Anstellung des Transpirationsversuches geschehen, weil dabei die feinsten Wurzelenden, welche gerade für die Wasseraufnahme sehr wichtig sind, leicht abgerissen oder verletzt werden; das ist namentlich dann der Fall, wenn das Ausheben nicht aus einem anderen Kulturgefäß, sondern direkt aus der Erde des Garten-

beetes, etwa mit dem Spaten, erfolgt. Soll der Versuch sich über mehrere Tage erstrecken, so ist für den Ersatz des Wassers Sorge zu tragen, welches die Pflanze dem Boden entzogen hat, denn der Wassergehalt des Bodens übt einen verändernden Einfluß auf die Transpirationsgröße. Am bequemsten ist eine solche Wasserzufuhr, wenn die Bedeckung des Kulturbodens mit zwei halbkreisförmigen Glasplatten erfolgt war, von denen jede zentral eine Ausnehmung besitzt, welche bei den Ausnehmungen beim Zusammenlegen der Platten einen Hohlkreis zum Durchtritte des Stammes bilden, wobei die noch offen bleibenden Lochteile durch Paraffin od. dgl. verschlossen werden können. In eine solche Glasplatte, resp. in eine Bohrung derselben kann durch einen Kautschukstöpsel die mit eingeriebenem Stöpsel versehene Röhre eingeführt sein, durch die das Wasser in den Kulturboden einfließen gelassen werden kann. Wenn der Versuch längere Zeit dauert, vergrößert die Pflanze ihre Blattoberfläche und ihr Gewicht, selbstredend wäre dadurch ein Fehler in der Rechnung bedingt, wie ja überhaupt neben der Gewichtsveränderung durch Wasserverlust die Gewichtsveränderungen durch Zunahme an Pflanzensubstanz durch Kohlensäureassimilation und deren Abnahme durch Atmung Hand in Hand gehen. Bei Keimpflanzen von Phaseolus vulgaris überwiegen beispielsweise die Verluste durch Atmung die Assimilationszuwächse anfangs so bedeutend, daß bis zum 21. Kulturtage die Trockensubstanz der Keimpflanze noch nicht die Trockensubstanz des Samens erreicht, aus dem sie sich entwickelt hat. Man wird daher, um diese Fehlerquelle soviel wie möglich zu vermeiden, die Transpirationsmessungen auf die Gewichts- oder noch besser auf die Flächeneinheit beziehen; aber selbst in diesem Falle sind womöglich langsamwüchsige Pflanzen für den Versuch zu wählen, bei denen die Vergrößerung der Blattoberfläche nicht allzusehr in Betracht kommt. Die Verwendung von Nährlösungen an Stelle fester Nährböden bietet vor allem den Vorteil, daß man die Ausbildung des Wurzelsystems besser beobachten kann; es hat sich nämlich gezeigt, daß die Ausbildung des Wurzelkörpers die Transpiration beträchtlich beeinflußt, so daß dieselbe Blattfläche eine viel bedeutendere Transpirationsgröße zeigt, wenn der Wurzelkörper stärker ist, als wenn er mangelhaft ausgebildet ist, ja eine Erkrankung des Wurzelsystems kann unter Umständen die Transpiration gegenüber einem wurzelgesunden Exemplar derselben Blattfläche um die Hälfte herabsetzen. Das ist besonders dann wichtig, wenn man für den Versuch möglichst gleiche Exemplare auswählt, wobei also nicht nur die „Gleichheit“ der oberirdischen Organe, sondern auch die des Wurzelsystems leicht beobachtet werden kann. Ferner geht es nicht an, Pflanzen der Erdkultur zur Anstellung des Transpirationsversuches in Wasserkultur zu übertragen oder Pflanzen der Wasserkultur mit solchen der Sandkultur bezüglich der Transpiration zu vergleichen, denn Versuche von *Giltay*[1]) haben ergeben, daß die letzteren mehr als doppelt so stark transpirierten wie die ersteren (das Ver-

[1]) *E. Giltay*, Beihefte z. Botan. Zentralbl. Bd. 9, S. 112 (1900).

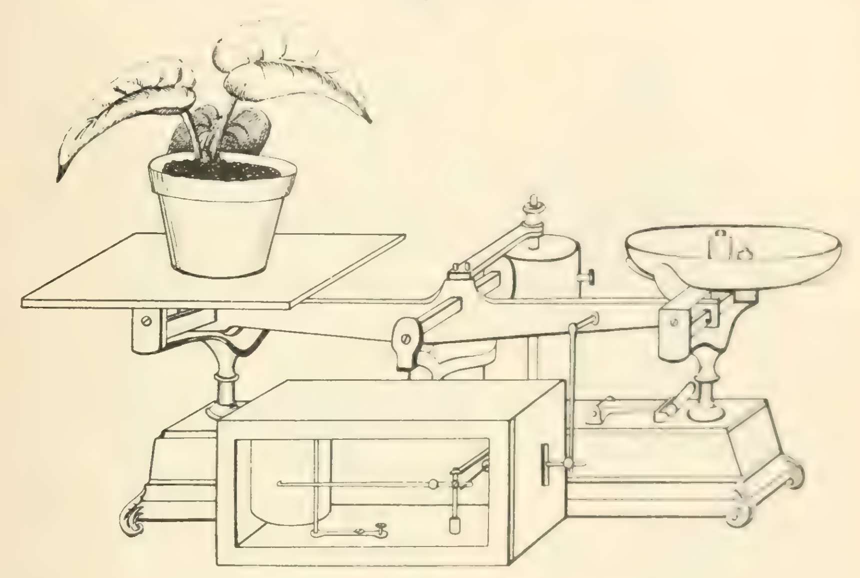
hältnis betrug 27 : 13 während des Tages und 19 : 12 während der Nacht), daß sie von der Witterung betreffs der Transpiration viel stärker beeinflußt werden und daß die Wasserabgabe bei Pflanzen der Wasserkultur von Tag zu Tag abnimmt. Ferner ist es zweckmäßig, den Teil des Kulturgefäßes, welcher das Wurzelsystem umschließt, mit einer lichtdichten Umhüllung zu versehen. Die Versuchsdauer mit einzelnen Blättern oder abgeschnittenen Zweigen sollte sich nur auf höchstens einige Stunden ausdehnen und die Zweige unter Wasser abgeschnitten werden. Hier wird es sich natürlich immer empfehlen, in Kulturflüssigkeiten zu arbeiten, in die das Objekt durch einen halbierten, zentralgebohrten Kork (analog den oben erwähnten Glasplattenhälften) befestigt wird, wobei die beiden Korkhälften den Stammteil des Versuchsobjektes zwischen sich nehmen. Freilich kann es sich bei dieser Versuchsanstellung an zarteren Stengeln leicht ereignen, daß durch Quetschung die Wasserleitung abnorm gestaltet wird. Kleinere Zweige, Blüten, Blätter etc. adjustiert man deshalb lieber in kleinen Eprouvetten mittelst dünnen Blumendrahtes. Um den Rand der Eprouvette läuft ein stärkerer, an seinem freien Ende hakenförmig umgebogener Draht, mittelst dessen man die ganze Eprouvette an der Wage aufhängen kann, wobei die Verdunstung der Nährlösungsoberfläche in der Eprouvette durch aufgeschüttetes Olivenöl verhindert wird (Fig. 162).

Für die Wägung kleinerer Pflanzen, so lange diese nicht an den Wagebalken anstreifen, dienen die gewöhnlichen analytischen Wagen, aber auch große Objekte mit vielen Kilo Gewicht können auf großen, eigens konstruierten Hebelwagen mit einer Genauigkeit von 0·1 *g* per 20 *kg* jederseitiger Belastung gewogen werden. Gute Dienste leistet die selbstregistrierende Wage von *Richard Frères*, Paris, das evaporomètre enregistreur, eine Tarawage (Fig. 164), auf deren eine Wagschale zu Beginn des Versuches die im Blumentopf entsprechend adjustierte Pflanze gestellt wird, worauf man durch entsprechendes Auflegen von Gewichten auf die andere Wagschale genau äquilibriert. Mit dieser Wagschale steht durch eine Hebelübertragung ein Schreibhebel in Verbindung, der auf einem mittelst Uhrwerkes rotierenden Zylinder streift, auf den das Registrierpapier aufgezogen ist. Hebt sich bei Wasserverlust die Wagschale mit dem Blumentopf, so sinkt die andere, mit welcher der Schreibhebel in Verbindung steht, so daß dieser seine registrierende Schreibbewegung auf dem Registrierpapier ausführt. Ein Laufgewicht ermöglicht eine verschiedene Einstellung des Schwerpunktes der Wage zum Mittelpunkt der Drehachse und damit eine Regulierung der Empfindlichkeit je nach der Schwere des Versuchsobjektes; eine andere Einrichtung ermöglicht auch die Anwendung dieser Wage zu Versuchen im Freien, indem sie deren Oszillation durch Windbewegung verhindert. Statt der Konstatierung der Gewichtsverluste in bestimmten Zeiten kann man umgekehrt auch bestimmen, in welchen Zeitteilchen das Versuchsobjekt einen bestimmten Gewichtsverlust erfährt: man äquilibriert dann die Wage, hebt ein kleines Gewicht ab und notiert die Zeit, welche verstreicht, bis der Wasserverlust des Objektes die Wage

wieder in Balance bringt und operiert in dieser Weise mehrere Male. Die bis zur Erreichung des Gleichgewichtes notwendigerweise verstreichende Zeitdauer steht in umgekehrter Proportion zur Transpirationsgröße.

Eine andere Methode läuft darauf hinaus, den von der Pflanze abgegebenen Wasserdampf volumetrisch oder gewichtsanalytisch zu messen, indem man das Wasser von irgend einer hygroskopischen Substanz, am besten Chlorkalzium, absorbieren läßt oder indem man den kondensierten Wasserdampf als tropfbar flüssiges Wasser ansammelt. Wenn diese Methode dem Chemiker naturgemäß am nächsten liegt, wird sie doch beim Physiologen wenig Beifall finden. Denn die Behandlung des Versuchsob-

Fig. 164.

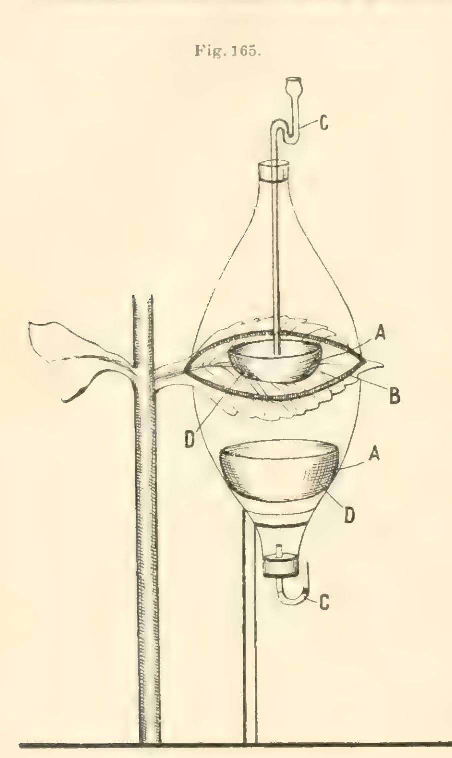


Evaporomètre enregistreur von *Richard Frères*, Paris.

jektes bei diesem Verfahren ist durchaus nicht naturgemäß. Im Falle der Aufsammlung des kondensierten Wassers muß die Pflanze oder der mit der eingewurzelten Pflanze in Verbindung stehende Pflanzenteil in einem Glasgefäß luftdicht eingeschlossen sein, wobei durch eine entsprechende Ablaßvorrichtung für die Entfernung des kondensierten Wassers Sorge getragen wird. Für kleine Pflanzen oder kleinere Pflanzenteile ist diese Methode überhaupt nicht verwendbar, weil nur größere Mengen kondensierten Wassers eine annähernd verwendbare Bestimmung ermöglichen; dabei muß, wenn mit einem Zweig experimentiert wird, der in natürlicher Verbindung mit einer Topfpflanze steht, wobei also der betreffende Zweig in einen Ballon hineinragt, dessen Tubus an der Abzweigungsstelle des Astes vom Stamm mit Guttapercha od. dgl. gasdicht verschlossen ist, die Erde des Topfes ausgiebig begossen werden, weil sonst die anderen

frei transpirierenden Sprosse der Pflanze das im Glasballon eingeschlossene Wasser entziehen. Dazu kommt, daß überhaupt die Transpirationsgröße solcher eingeschlossener Pflanzenteile beträchtlich vermindert ist, weil das Glasgefäß sehr bald dunstgesättigt ist; arbeitet man im Dunkeln, so häuft sich auch die Atmungskohlensäure bis zu einem schädigenden Maße an, während im Lichte diese Kohlensäure wohl im Prozesse der Assimilation wieder Verwendung findet. Solche Versuche können also jedenfalls nur von kurzer Dauer sein, wobei aber wieder, wenigstens bei kleineren Pflanzenteilen, die Menge des erhaltenen Wassers ungenügend ist. Läßt man das abgegebene Wasser durch $CaCl_2$ od. dgl. absorbieren, so vermeidet man diesen Übelstand, schafft aber freilich mitunter zu trockene Lufträume. Zweckmäßiger ist es in diesem Falle, das mit $CaCl_2$ beschickte Gefäß nicht unter dieselbe Glocke zu bringen, unter welcher die Versuchspflanze steht, sondern dasselbe durch einen dickwandigen Kautschukschlauch mit derselben zu verbinden; man verwendet dann Röhren mit $CaCl_2$ wie bei der Elementaranalyse, während die Versuchsglocke mit paraffiniertem Korkstöpsel verschlossen ist, der in seinen beiden Bohrungen eine kurze und eine lange rechtwinklig gebogene Glasröhre trägt, die mit den Kautschukschläuchen versehen sind, an welchen sich verschließende Quetschhähne befinden. Nach einer bestimmten Versuchszeit saugt man mittelst Aspirators die Luft aus der Glocke in die vorgelegten gewogenen $CaCl_2$-Röhren, wobei natürlich die Quetschhähne geöffnet und das lange Glasrohr, durch welches die Außenluft eingesaugt wird, mit einem vorgelegten Wasser absorbierenden Medium versorgt wird, welches dazu dient, die äußere Luft vor ihrem Eindringen zu trocknen. Nach einer Zeit des Durchsaugens schließt man wieder die Quetschhähne und vermeidet so die Gefahr des wasserdampferfüllten und auch des zu trockenen Raumes. Es wäre noch zu bemerken, daß der Luftabschluß einer solchen Glocke nie durch Quecksilber bewirkt werden darf, dessen Dämpfe die Versuchspflanze schwer schädigen. Am besten ist es, eine auf Glasplatten aufgeschliffene Glocke zu verwenden, die durch Vaselin auf die Glasplatte gedichtet ist. Den Stöpsel für den

Fig. 165.

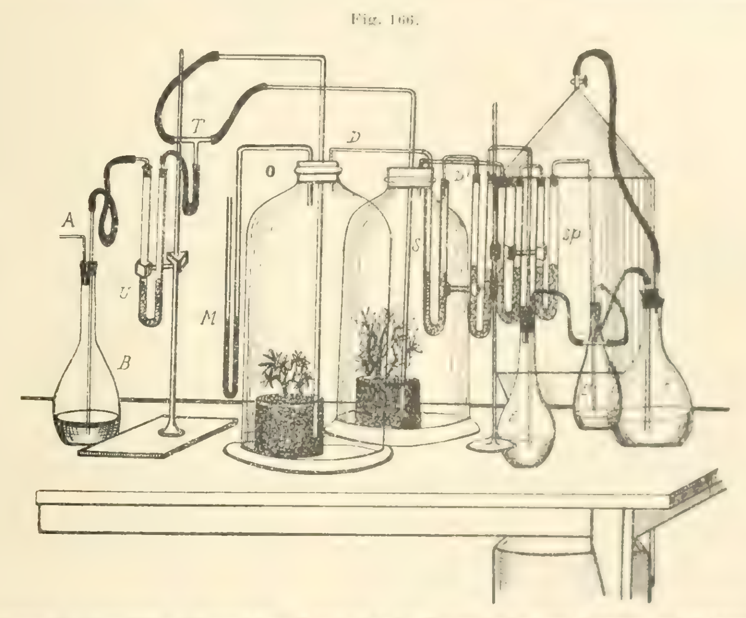


Garreaus Apparat zur vergleichenden Bestimmung der Transpirationsgröße von Blattober- und -unterseite (nach *Burgerstein* l. c.).

oberen Tubus der Glocke kann man entweder (nach dem festen Einsetzen in den Tubus) paraffinieren oder mit Kollodium überziehen oder durch belichtetes Kaliumchromat abdichten.

Auf die Verdunstungsgröße hat die Zahl, Verteilung, Anordnung, Bewegungsfähigkeit der Spaltöffnungen als der wichtigsten wasserabgebenden Organe den größten Einfluß. Bei dorsiventral gebauten Blättern führt die Blattoberseite ungleich weniger Stomata als die Unterseite, aber auch andere anatomische Verschiedenheiten bewirken, daß die Unterseite wesentlich mehr Wasserdampf abgibt als die Oberseite. Jedenfalls ist es oft wünschenswert, einen Vergleich der Transpirationsgröße bei den beiden Blattseiten zu ziehen. Einen Apparat zur experimentellen Bestimmung

Fig. 166.



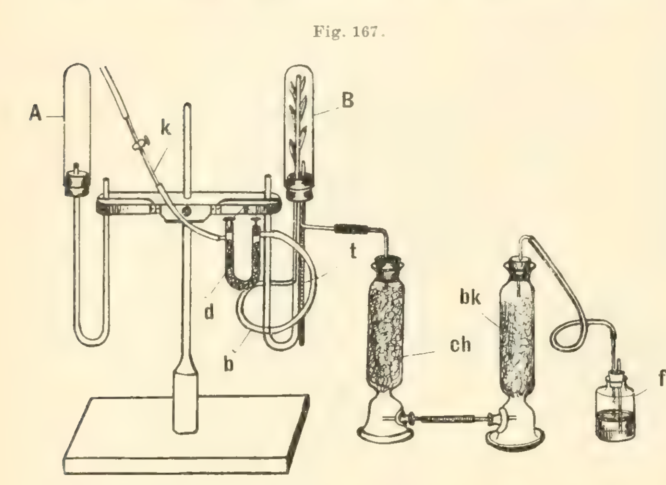
Geneau de Lamarlières Apparat zum Vergleiche der Transpiration von Sonnen- und Schattenpflanzen. (Nach *Burgerstein* l. c.)

eines solchen hat *M. Garreau*[1] konstruiert (Fig. 165). *A A* sind trichterförmige Glasbecher, deren jeder am Rande einen Leinwandring *B* trägt, der mit einer Mischung von Wachs und Burgunderpech bestrichen und dann mit feinem Fett eingeschmiert ist, so daß er nach leichtem Druck fest an der Blattfläche haftet. Jeder Becher enthält ein Schälchen *D* mit $CaCl_2$ und trägt an seinem Ende, durch einen Kautschukstöpsel eingesetzt, ein gebogenes Röhrchen *C* mit einem Tropfen Öl zur Absperrung der äußeren Luft. Die Schalen mit dem $CaCl_2$ werden vor und nach dem Versuch gewogen, das Chlorkalzium darf aber in nicht zu großer Menge enthalten sein, um den Luftraum nicht zu sehr auszutrocknen.

[1] *M. Garreau*, Ann. sciences nat. Bot. (3e). T. **13** p. 321 (1849).

Um die relativen Transpirationsgrößen von Sonnen- und Schattenblättern zu bestimmen, hat *Geneau de Lamarlière*[1]) folgenden Apparat konstruiert (Fig. 166): Die durch einen Aspirator angesaugte Luft passiert zuerst die mit Schwefelsäure gefüllte Flasche *B* zur Absorption des Wassers, dann das mit Ätzkalistücken beschickte Rohr *U*, um mitgerissene Schwefelsäure aufzufangen, um sich dann im T-Rohr *T* zu teilen und in die beiden luftdicht aufgeschliffenen und verschlossenen Glocken *O* und *S* geleitet zu werden. Unter der einen Glocke steht die Sonnen-, unter der anderen die Schattenpflanze. Die aus den Glocken austretende Luft durchzieht je zwei mit $CaCl_2$ gefüllte, gewogene Röhren, welche den von den Pflanzen abgegebenen Wasserdampf auffangen. Den U-Röhren sind die Schwefelsäureflaschen *E* und E_1 vorgelegt, um keine Feuchtigkeit aus dem Aspirator hineingelangen zu lassen. Das Rohr *F* vereinigt die Luftströme wieder, die durch die Wasserflasche *f*, die mitgerissene Schwefelsäure auffängt, zum Aspirator *SP* zieht. *M* ist ein Manometer, das den unter den Glocken herrschenden Luftdruck anzeigt.

Fig. 167.



Verschaffelts Apparat (Einfluß der Kohlensäure auf die Wasserdampfabgabe) nach *Burgerstein* l. c.

Verschaffelt[2]) hat einen Apparat gebaut, um den Einfluß des Kohlendioxyds auf die Wasserdampfabgabe zu bestimmen (Fig. 167). In der Zeichnung ist nur die eine Hälfte der symmetrischen Apparatur dargestellt; nur daß in der linken Hälfte das Gefäß *bk* mit Ätzkali fehlt. Auf einem Gestell befindet sich beiderseits unter einer zylindrischen Glasglocke *A* und *B* je ein Exemplar der Versuchspflanze, deren Wurzelsystem in die Nährstofflösung (das Gefäß ist in der Zeichnung nicht sichtbar) taucht. Durch beide Glocken, deren Temperatur durch das Thermometer *t* gemessen wird, wird Luft gesaugt, welche die Waschflasche *f* passiert, an das Ätzkali in *bk* Kohlendioxyd abgibt, an das $CaCl_2$ in *ch* ihren Wasserdampf und dann in den Versuchszylinder *B* gelangt, von wo sie mit dem Transpirationsdampf der Pflanze beladen durch Rohr und Schlauch *b* zu dem gewogenen U-förmigen $CaCl_2$-Rohr *d* und aus diesem durch den mit Hahn verschließ-

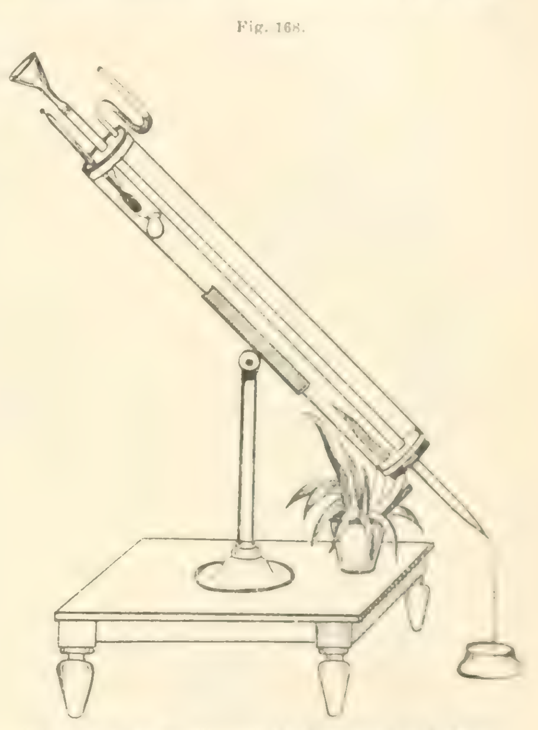
[1]) *L. Geneau de Lamarlière*, Revue gén. de Bot. T. 4. p. 529 (1892).

[2]) *E. Verschaffelt*, Botanisch Jahrboek mitgegeven door het kruidkundig genootschap „Dodonaea“ te Gent. Bd. 2. S. 305 (1890). Nach *Burgerstein*, l. c.

baren Schlauch k zum Aspirator gelangt. Die andere Hälfte des Apparates hat dieselbe Einrichtung, nur daß die Versuchspflanze in A infolge Fehlens des Kaliturmes bk trockene kohlensäurehaltige Luft erhält.

A. Aloi [1]) untersuchte folgendermaßen den Einfluß der Lufttemperatur auf die Transpiration (Fig. 168). Ein mit einer bewurzelten Topfpflanze in Verbindung stehendes Blatt wurde luftdicht in einem geneigten Glaszylinder eingeschlossen, der ein in derselben Richtung axial laufendes Rohr enthielt, durch welches beliebig temperiertes Wasser geleitet werden konnte, so daß man imstande war, die Temperatur in der unmittelbaren Umgebung des Blattes fast konstant zu erhalten. Im Glaszylinder war ein Schälchen mit $CaCl_2$ eingeschlossen, dessen Gewichtszunahme die Menge des evaporierten Wasserdampfes zu bestimmen gestattet; ein Thermometer dient zur Messung der Temperatur.

Fig. 168.



Alois Apparat zur Bestimmung des Einflusses der Lufttemperatur auf die Transpiration (nach Burgerstein l. c.).

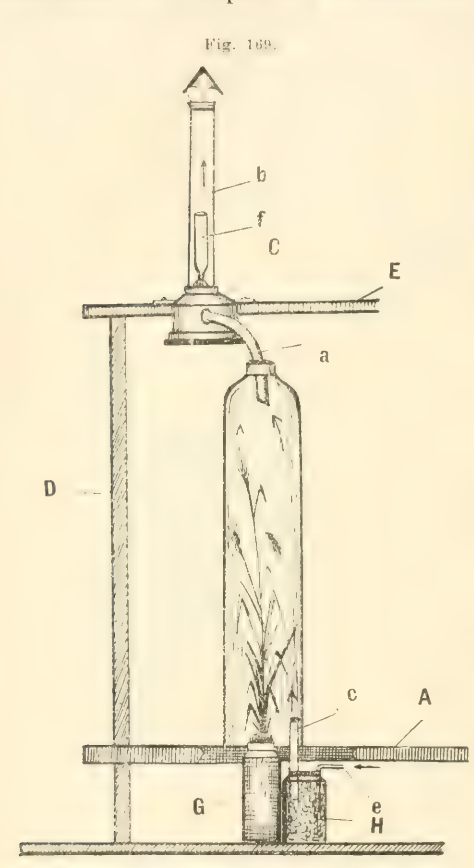
Eines besonderen Apparates bediente sich *Hellriegel* [2]), um den Einfluß der Luftfeuchtigkeit auf den Ernteertrag von Gerstenpflanzen und auf die Transpiration kennen zu lernen (Fig. 169). Auf den Pfosten A wird eine 120 *cm* hohe Glasglocke aufgesetzt, die in einer eng eingeschnittenen Rinne desselben stehend, am Rande mit einer Mischung von Wachs, Herz und Paraffin luftdicht verkittet wird. Die obere Mündung der Glocke wird durch die gebogene Glasröhre a mit der Zinkblechbüchse C verbunden, die an den Pfosten E angeschraubt ist, der seinerseits wieder von der Säule D getragen wird. In der Mitte des Büchsendeckels befindet sich eine ca. 4 *cm* weite Öffnung mit kurzem Rohrstutzen, der zum Einsetzen einer 66 *cm* hohen Glasröhre b dient, die am Ende zum Schutze gegen mechanische andere Einflüsse eine Blechkappe trägt. Der Boden der Büchse C kann durch einen Bajonettverschluß

[1]) *A. Aloi*, Relazioni esistenti tra la transpiratione delle piante terrestri ed il movimento delle cellule stomatiche. Catania 1891.

[2]) *H. Hellriegel*, Beiträge zu den naturw. Grundlagen des Ackerbaus. Braunschweig 1883. Nach *Burgerstein* l. c.

leicht auf- und abgeschraubt werden, so daß eine Petroleumlampe *f* leicht eingeschoben und entfernt werden kann. In den Pfosten unterhalb der Glocke sind zwei Öffnungen eingesägt, die zentral gelegene dient zur Aufnahme des oberen Teiles vom Kulturgefäß *G*, die andere kleinere seitliche trägt das Glasrohr *c*, das den Eintritt der Außenluft ermöglicht. Nach Einsetzen der Lampe in *C* entsteht ein lebhafter Luftzug in der Pfeilrichtung. Nach Belieben kann durch *e* trockene oder feuchte Luft eingelassen werden, je nachdem man das ca. 2 *l* enthaltende Gefäß *H* mit schwefelsäuregetränktem Bimsstein oder mit einer 1—$1^1/_2$ *cm* hohen Wasserschichte beschickt, in der sich ein schlangenförmig gebogener und mit Filtrierpapierstreifen dicht behängter Glasstab befand. Die Vegetation von Gerstenpflanzen in einer solchen Glocke ist eine durchaus normale, auch wenn sie monatelang darin verweilen, die Verdunstungsgröße der Pflanze kann durch tägliche Wägung der Gewichtsabnahme der Gefäße ermittelt werden.

Fig. 169.

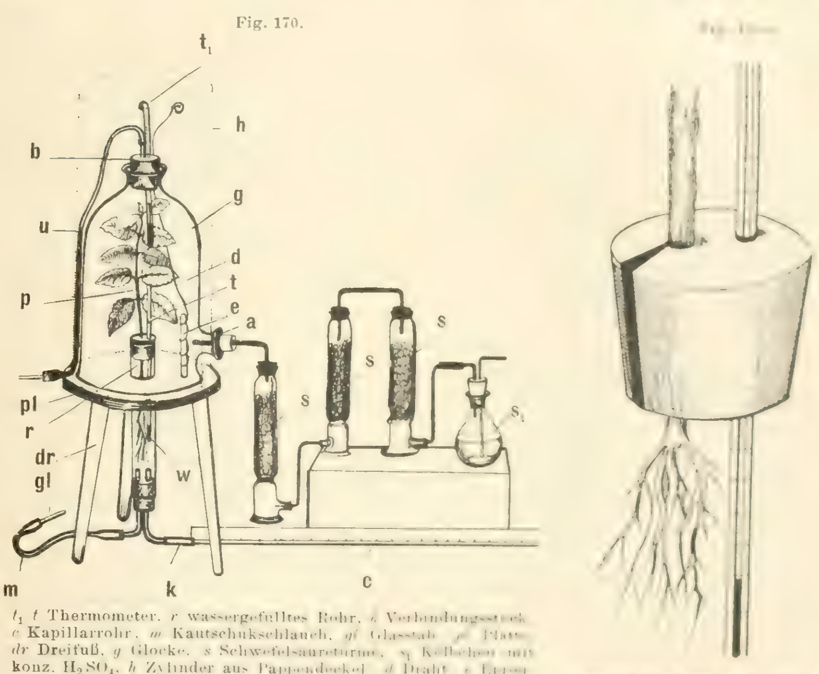


Hellriegels Apparat zur Bestimmung des Einflusses der Luftfeuchtigkeit auf den Ernteertrag nach *Burgerstein* l. c.

Eine viel benützte Methode beruht in der Messung des von der Pflanze Aufgenommenen statt in der Bestimmung des durch Transpiration Abgegebenen. Freilich muß man sich bewußt bleiben, daß man es mit einem Lebewesen zu tun hat, bei dem es sich also nicht verhält wie bei einem Schwamm, bei dem allenfalls das eingesogene Wasser sowohl durch Abnahme des Wassers in dem Aufnahmsgefäß, als auch durch Wägung des aus dem Wasser ausdrückbaren Wassers bestimmen kann, mit anderen Worten, daß Wasseraufnahme und Wasserabgabe durch die Pflanze zwei voneinander physiologisch geschiedene Vorgänge sind, die nicht ohneweiters quantitativ miteinander in kausale Verbindung gebracht werden können: nur bei länger andauernden Versuchen, nicht aber bei kürzeren Ablesungen ist ein gewisser Parallelismus vorhanden, während der Assimilationstätigkeit wird überdies ein Teil des aufgenommenen Wassers chemisch verwendet etc. Keinesfalls kann man also statt Transpirationsgröße einfach

Aufnahmegröße des Wassers setzen, dazu kommt noch, daß Veränderungen der äußeren Verhältnisse, wie Temperatur, Licht etc., die beiden Prozesse in verschiedener Weise beeinflussen, daß auch innere Verhältnisse der Pflanze in verschiedener Weise auf dieselben Einfluß nehmen können. Eine zartblätterige Pflanze, aus einem kühlen Rohr in einen wärmeren, aus dem zerstreuten Tageslicht in direktes Sonnenlicht gebracht, wird viel mehr Wasser durch Transpiration abgeben, als die Wurzeln aus dem Nährsubstrat aufnehmen können. Die Pflanze wird im extremen Falle trotz reichlicher Wasserzufuhr welken; wurde dagegen bei einer Topfpflanze der Boden trocken werden gelassen, so wird bei folgendem Begießen zunächst

Fig. 170.



t_1 t Thermometer, r wassergefülltes Rohr, a Verbindungsstück, c Kapillarrohr, m Kautschukschlauch, gl Glasstab, pl Platte, dr Dreifuß, g Glocke, s Schwefelsäuretürme, s_1 Kölbchen mit konz. H_2SO_4, h Zylinder aus Pappendeckel, d Draht, e Eprouvette mit Sand gefüllt.

[illegible]

das Einsaugen des Wassers die Abgabe bei weitem übertreffen; eine konstante Parallelität ist also in keinem Falle gegeben. Immerhin ist unter konstanten äußeren Verhältnissen und längerer Versuchsdauer die Methode auch für die Erlangung von approximativen Transpirationswerten geeignet. Auf alle Fälle ist es vielfach eine Aufgabe für sich und physiologisch wünschenswert, die Menge des Wassers von einer Pflanze unter bestimmten Verhältnissen und in einer bestimmten Zeit zu kennen. Mehrfach wurde der Apparat von *Kohl*[1]) benützt (Fig. 170): In das Rohr r, welches mit Wasser gefüllt ist, bringt man von oben mittelst eines doppelt durchbohrten, teilweise gespaltenen Kautschukstöpsels den bewurzelten Teil w der Versuchspflanze p

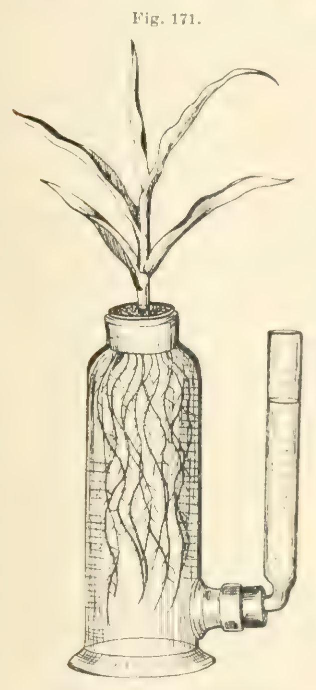
[1]) *F. G. Kohl*, Die Transpiration der Pflanzen. Braunschweig [illegible].

und ein Thermometer *t*, welches die Temperatur des Wassers anzeigt: von unten her münden zwei Glasröhren in das Rohr *r*, von welchen die eine durch das Verbindungsstück *k* mit dem langen Kapillarrohr *c*, die zweite mit dem Kautschukschlauch *m* verbunden ist. Letzterer ist durch den Glasstab *gl* verschlossen, durch dessen Verschiebung man den Stand der Wassersäule in *c* verschieben kann. Die Platte *pl* auf dem Dreifuß *dr* ist mit dem Rohr *r* durch Kitt verbunden und trägt die Glocke *g*, in welche bei *a* trockene Luft, die bei *b* durch das Rohr *u* die Glocke wieder verläßt, eintritt. Das Trocknen der Luft geschieht in den Schwefelsäuretürmen *s*, *s*, *s*; vor diese ist noch das Kölbchen s_1 mit Schwefelsäure vorgeschaltet. Ein an *u* angeschlossener Aspirator saugt durch die Glocke einen kontinuierlichen Luftstrom, dessen Temperatur durch ein von oben eingesenktes zweites Thermometer *t'* gemessen wird. Durch Überstülpen des Pappzylinders *h* kann die Pflanze unter der Glocke momentan verdunkelt werden. Das Kapillarrohr *c* ist einem langen, fein geteilten Maßstab angelegt, dessen Einteilung behufs bequemen Ablesens zur Tischebene geneigt steht. Der Draht *d* trägt an seinem unteren Ende die mit Sand gefüllte Eprouvette *e*, welche erhitzt in die Glocke *g* eingeführt wird, um die Temperatur unter letzterer rasch um mehrere Grade steigern zu können. Es wird dann jedesmal die Zeit notiert, die zur Verkürzung der Wassersäule um eine bestimmte Anzahl von Teilstrichen der Skalenlänge nötig ist. Dieser Apparat ist sehr empfindlich, wird aber von *Eberdt*, wenn ein Konstanterhalten der Temperatur von Luft und Boden sowie von deren Feuchtigkeitsgehalt nicht notwendig erscheint, durch folgende einfachere Vorrichtung ersetzt: Die Pflanze wird in ein Glasgefäß, etwa nach Art der gewöhnlichen Pulvergläser, das mit Wasser gefüllt ist und in dem ein Thermometer frei schwimmt mit Hilfe eines entzweigeschnittenen und passend gebohrten Kautschukstöpsels (Fig. 170*a*) eingesetzt, das untere Ende des Gefäßes hat eine Öffnung, in welche das feinkalibrierte Meßrohr ebenfalls luftdicht eingesetzt ist. Diese ganz einfache Apparatur samt Pflanze kann auf eine große analytische Wage gebracht und somit sehr einfach am Gewichtsverlust einerseits, am Sinken des Wasserspiegels längs des Meßrohres die Aufnahme des Wassers durch die Wurzeln andrerseits beobachtet werden.

Wenn es mit einem Apparate möglich ist, sowohl den Betrag der Wasseraufnahme als auch den der Wasserabgabe zu bestimmen, ist die Beantwortung zweier physiologischer Fragen gegeben, man darf nur nicht in den einzelnen Versuchszeiten eine Übereinstimmung beider Werte erwarten, da, wie bereits erwähnt, die physiologischen Vorgänge der Wasseraufnahme und Wasserabgabe Leistungen der Pflanze entsprechen, die getrennt ablaufen und auch verschiedentlich beeinflußt werden. *Pfeffer* beschreibt (Pflanzenphysiologie, I, 214) einen sehr einfachen derartigen Apparat, bestehend aus einem graduierten Gefäß nach Art eines Meßzylinders (Fig. 171), dessen obere Öffnung aber verengert ist und in welcher die Versuchspflanze mit Hilfe eines Stöpsels luftdicht befestigt ist: in der Nähe des Bodens

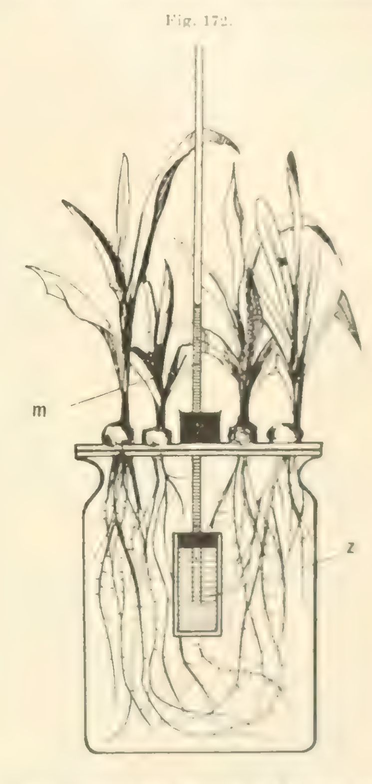
besitzt der Zylinder einen Tubus, welcher, mit einem Kautschukstöpsel versehen, das rechtwinklig gebogene, mit einer Maßeinteilung versehene mit dem Zylinder kommunizierende Glasrohr trägt. Auch hier wird das Ursprungsgewicht des ganzen Apparates samt Pflanze und dann dessen Gewichtsabnahme durch Wägung bestimmt und so die Größe der Transpiration gefunden, während gleichzeitig das Flüssigkeitsniveau im kommunizierenden Meßrohr die aufgenommene Wassermenge anzeigt. Zu berücksichtigen ist dabei das von den Wurzeln verdrängte Wasservolumen

Fig. 171.



Pfeffers Transpirationsapparat.

Fig. 172.

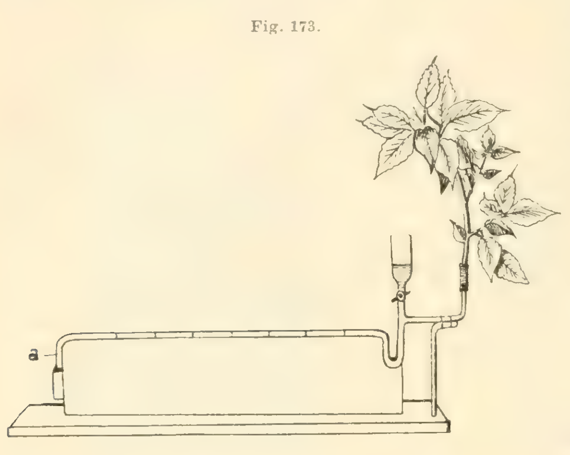


[illegible] Apparat zur [illegible] Messung der [illegible] Wurzeln [illegible]

welches in verschiedenen Niveauhöhen ungleich ist. Bei dieser Gelegenheit sei auf einen von mir konstruierten Apparat (Fig. 172) aufmerksam gemacht, welcher zu quantitativen Messungen sehr geeignet wäre, wenn es gelänge, etwa nach dem Vorgange von *Pfeffer* oder von *Horse* und *Moore* eine dauerhafte semipermeable Membran herzustellen. Bei vielen ernährungsphysiologischen Versuchen mit einer Salzlösung ist es von Wert, den Betrag des durch das Wurzelsystem aufgenommenen Salzquantums einfach und schnell zu bestimmen. Ein zylindrisches Gefäß trägt eine Glasplatte, die in der Mitte eine weitere, in der Peripherie eine Reihe kleinerer Bohrungen besitzt; die weitere Bohrung trägt einen Kautschukstöpsel, in den eine feine graduierte

Meßröhre eingesetzt ist, welche ihrerseits wieder luftdicht in einer Tonzelle befestigt ist; dieser letzteren wurde vorher die semipermeable Membran eingelagert (sei es, daß sie mit Kupferchlorid gefüllt in Ferrocyankalilösung eingetaucht worden war, sei es, daß durch die Lösungen der elektrische Strom durchgeleitet wurde, wobei die beiden Lösungen, innerhalb der Tonwand miteinander in Kontakt geratend, das Ferrozyankupferhäutchen bilden); die äußeren, peripherischen Bohrungen dienen zur Aufnahme der angekeimten Samen, deren Würzelchen durch das Loch in die Nährlösung eintaucht, der freibleibende Raum wird mit paraffinierter Watte oder dgl. gedichtet. Das zylindrische Gefäß sowohl als auch semipermeable Zelle sind mit derselben Lösung gefüllt, die in der Meßröhre zu Beginn des Versuches bis zu einer bestimmten Marke reicht. Das ganze Gefäß samt Pflanzen befindet sich unter einer Glocke, die Verluste durch Transpiration können bei länger dauernden Versuchen ersetzt werden. Nehmen nun die sich entwickelnden Pflanzen Mineralstoffe aus der Nährlösung auf, so sinkt die Konzentration im Kulturgefäß im Vergleich zur Konzentration der Lösung innerhalb der Zelle; es erfolgt also in diese von außen eine Wassereinströmung, der aber nur das Wasser, nicht die gelösten Stoffe folgen können, bis sich ein Gleichgewicht einstellt; mit fortdauernder Mineralstoffentnahme wird das Gleichgewicht wieder verschoben und die Höhe der Wassersäule in der Meßröhre bei Abbruch des Versuches gibt die Menge der aufgenommenen Mineralstoffe an, da ein Parallelismus zwischen der Höhe der Wassersäule und der Menge der verschwundenen Mineralstoffe besteht. Es ist nur notwendig, ein für allemal durch quantitative Analyse die Parallelität dieser beiden Meßwerte zu bestimmen, um zu absoluten Zahlen zu gelangen. Selbstredend ist diese Methode nicht nur für einzelne Salze, sondern für jede Nährlösung anwendbar, wenn einmal das Zahlenverhältnis zwischen Wasserhöhe und Mineralstoffentnahme dafür tabellarisch festgestellt worden ist. Es ist auf diese Weise auch möglich, die von *Monnier* und *Déléano* und anderen Autoren festgestellte Wanderung von Mineralstoffen aus der Pflanze in die Nährlösung zu verfolgen und sichtbar zu machen; durch entsprechende Wägungen der ganzen Apparatur ist es auch hier notwendig, den Betrag der Transpiration festzustellen. Eine große Schwierigkeit besteht allerdings in der

Fig. 173.

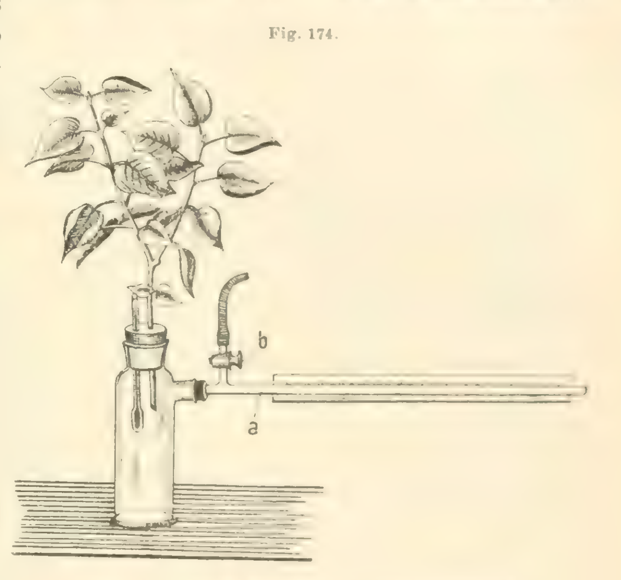


Mac Dougals Potometer.

Herstellung der halbdurchlässigen Membranen, eine Schwierigkeit, die zu überwinden nur erst in ganz wenigen Fällen gelungen ist.

Mac Dougals[1]) „Potometer" (Fig. 173) besteht aus einem etwa meterlangen englumigen Glasrohr, dessen Teilstrichabstände 100 *mg* Wasser entsprechen. Das eine Rohrende ist rechtwinklig nach abwärts gebogen und taucht in ein kleines Gefäß mit Wasser, das andere Ende ist U-förmig nach aufwärts gebogen und dient zur Befestigung der Versuchspflanze. Nachdem der Apparat mit Wasser gefüllt wurde, läßt man durch Heben des Schenkels *a* eine Luftblase eintreten und notiert die Zeitintervalle, die verlaufen, wenn diese Luftblase von einem Teilstrich zum anderen vorrückt. Verwendet man gefärbtes Wasser, so ist die durch das Vorrücken der Luftblase angezeigte Aufnahme des Wassers durch den Sproß einem größeren Auditorium sichtbar zu machen, die Transpirationsgröße wird allerdings dadurch nicht angegeben.

Fig. 174.



Pfeffers Apparat für feinere Transpi[illegible]

Pfeffer[2]) hat für feinere Transpirationsmessungen, als sie mit seinem oben beschriebenen einfachen Apparat möglich sind, ein Instrument konstruiert, bei dem ein ganz ähnliches Versuchsgefäß verwendet wird, wie bei jenem, nur daß hier der Tubus oben statt unten angebracht ist (Fig. 174). Der Stöpsel, welcher das Gefäß verschließt, trägt in der einen Bohrung den zum Versuche verwendeten Sproß, in der andern ein Thermometer, das ebenfalls in das Wasser eintaucht. Das englumige, in dem Tubus befindliche Rohr *a* trägt einen Maßstab und liegt horizontal, wodurch eine Veränderung des Wasserdruckes vermieden wird. Ein Wiederfüllen des Rohres ist durch den Hahn *b* möglich, welcher die Verbindung mit einem höhergestellten Gefäße herstellt. Mittelst dieses Apparates ist die Ablesung innerhalb sehr geringer Zeitintervalle und die Beobachtung der Aufnahme von sehr geringen Wassermengen möglich.

---

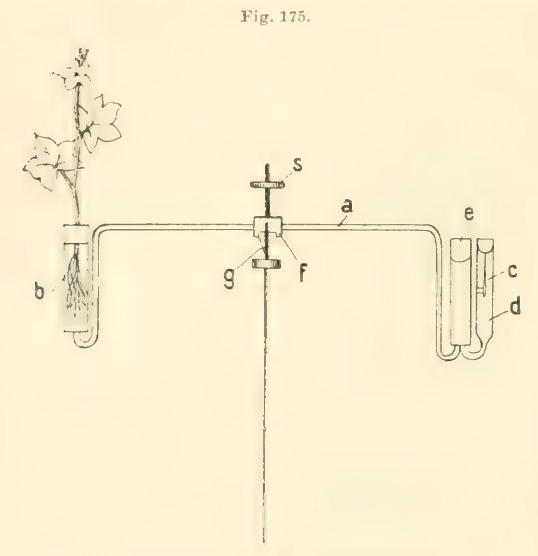
[1]) *Mac Dougal*, Botan. Gaz. Vol. 24, p. 110 (1897).

[2]) *W. Pfeffer*, Pflanzenphysiologie I, S. 223.

Guppenberger[1]) verwendet eine gewöhnliche *Woulff*sche Flasche, in deren einem Tubus die Versuchspflanze luftdicht eingesetzt, in deren anderem eine zweimal gebogene, englumige, in Kubikzentimeter eingeteilte Glasröhre befestigt ist. Der ganze Apparat wird mit Wasser gefüllt und so die Aufnahme von Wasser durch die Versuchspflanze an der Änderung des Wasserstandes am Meßrohr festgestellt.

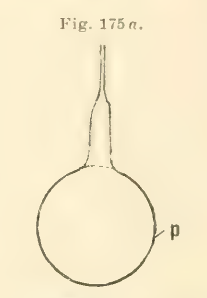
Zur Bestimmung der Transpiration hat *Vesque*[2]) einen Apparat beschrieben (Fig. 175 u. 175 *a*). Ein Kapillarrohr aus Kristallglas *a* ist an seinen beiden Enden rechtwinklig nach abwärts gebogen; das wieder nach aufwärts gekrümmte Ende reicht einerseits von unten in den mit Wasser gefüllten Zylinder *b*, der oben in der üblichen Weise mit dem Stöpsel verschlossen ist, in

Fig. 175.



J. Vesques Apparat zur Transpirationsmessung.

Fig. 175 *a*.



Tariertes Fläschchen zu *Vesques* Transpirometer.

den die Versuchspflanze luftdicht eingepaßt wurde. Andrerseits ist das nach aufwärts gebogene Ende mit folgendem Apparate verbunden: Der kleine Zylinder *e* ist an seinem unteren Ende mit einem doppelt gebohrten Stöpsel verschlossen, in dessen eine Öffnung eben das gebogene Ende des Rohres *a* eingeführt ist, in die andere Bohrung reicht der Schenkel des Zylinders *d*, der nach unten verschmälert ist und eben in jene gebogene Röhre ausläuft; *e* und *d* sind mit Wasser gefüllt, in der Mitte von *d* ist eine nach aufwärts gerichtete Nadel *c* befestigt, deren Spitze zu Beginn des Versuches den Flüssigkeitsspiegel berührt. Das Kapillarrohr geht durch die Fassung *f*, mit der ein auf dem Balken *g* aufliegendes Prisma befestigt ist. Das ganze Instrument funktioniert wie eine Wage und so wie bei einer solchen läßt sich mittelst der Schraube *s* der Schwerpunkt nach oben oder nach unten verschieben. Die Pflanze entnimmt ihr Wasser aus dem Zylinder *e*, während das Gefäß *b* ständig mit Wasser gefüllt bleibt.

[1]) *L. Guppenberger,* VII. Jahresber. d. Vereines f. Naturkunde in Österreich ob der Enns. Linz 1876. S. 1. Nach *Burgerstein,* l. c. S. 18.

[2]) *J. Vesque,* Annal. sc. de nat. Bot. T. **6**. p. 201 (1878).

Angenommen, zu Beginn des Experimentes sei das Instrument im Gleichgewicht, die Nadelspitze sei auf Null eingestellt und das Gewicht jeder der Wagebalken sei mit P bezeichnet. Ist p der Betrag des durch die Wurzel aufgenommenen, p_1 der des durch die Pflanze in der Transpiration abgegebenen Wassers, so ist das Gewicht des Wagebalkens auf der Seite des mit der Pflanze versehenen Zylinders b

$$P + p - p_1,$$

das Gewicht des andren Wagebalkens

$$P - p.$$

Um das Gleichgewicht wieder herzustellen, muß auf dieser Seite Gewicht zugelegt werden, und zwar

$$(P + p - p_1) - (P - p) = 2p - p_1 = x.$$

Diese Zahl wird in der Regel positiv sein, d. h. das Gefäß b wird gesunken sein; im Falle sich c gesenkt haben sollte, wäre $p_1 > 2p$, d. h. die Pflanze hätte mehr als das Doppelte des aufgenommenen Wassers abgegeben. Wenn die Pflanze gerade doppelt soviel Wasser abgibt, wie sie aufnimmt, bleibt die Wage im Gleichgewicht. Sobald der Versuch beginnt, sehen wir das Niveau des Wassers fallen und die Nadel aus d emportauchen.

Angenommen, es wäre $p > p_1$, d. h. die aufgenommene Wassermenge sei größer als die abgegebene. Aus einem tarierten Fläschchen F (Fig. 175 a) wird in das Gefäß c soviel Wasser gegossen, bis das Nullniveau bei d wieder hergestellt ist. Die Gewichtsdifferenz des Fläschchens entspricht dem Gewichte des aufgenommenen Wassers p; das Gleichgewicht ist aber noch nicht hergestellt, man muß noch, um das zu erreichen, eine kleine Menge Wassers, entsprechend $p - p_1$, hineinschütten, welche mit der erst zugefügten zusammen die Menge x ergibt. Wir kennen $x = p + (p - p_1)$. Kennen wir nun p und x, so ist die in der Transpiration abgegebene Wassermenge aus der Gleichung

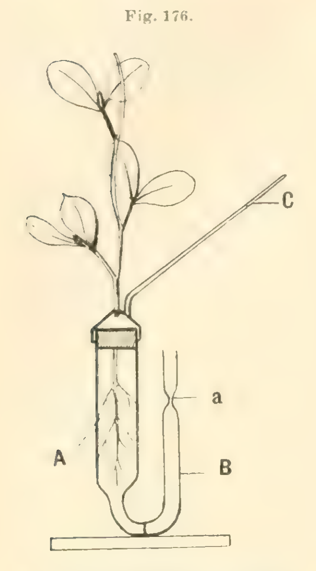
$$p_1 = 2p - x$$

zu bestimmen. Der Apparat eignet sich vor allem zu Demonstrationszwecken. An einem trockenen Ort auf den Boden gestellt, sinkt die Apparatseite c. Unter gewöhnlichen Vegetationsbedingungen, in feuchter Luft und in diffusem Licht bemerkt man, daß gleichzeitig mit der Einstellung des Niveaus bei d man das Gleichgewicht $p = p_1 : n = p_1$ wieder herstellt. Es geschieht häufig, daß eine Operation nicht genügt, sondern daß man eine neue Menge Wassers zufügen muß, um die Nadel wieder auf Null einspielen zu lassen.

Ein einfacherer von *Vesque* konstruierter Apparat besteht aus folgendem (Fig. 176): Ein Glaszylinder A ist mit einem Stopsel verschlossen, in dem der Pflanzensproß luftdicht befestigt ist; unten kommuniziert dieser Zylinder mit einem engeren Zylinder B, der so gekrümmt ist, daß er einen langen vertikalen Schenkel bildet. An der Stelle a desselben ist der Zylinder eingeschnürt. In den Stopsel des ersten Zylinders ragt das [illegible] und ausgezogene Kapillarrohr C, durch das dieser mit der äußeren Luft

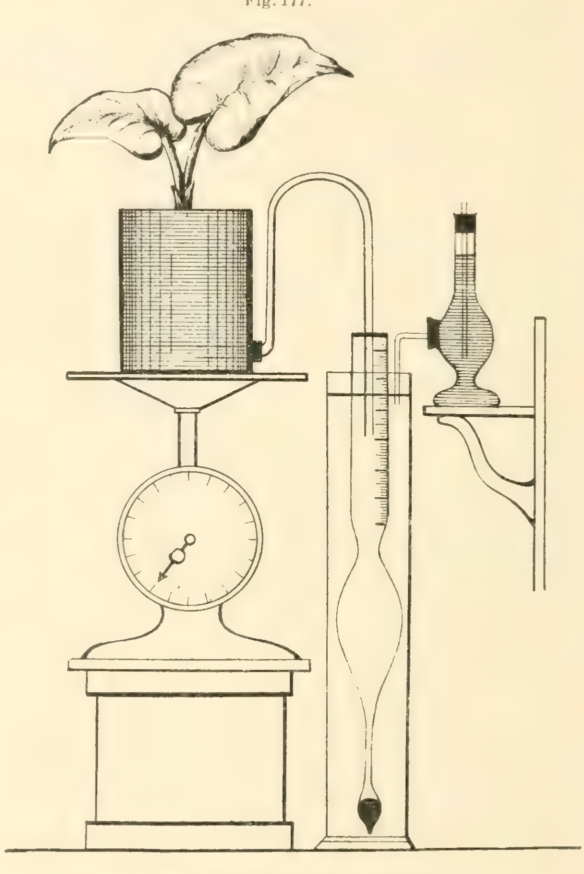
in Verbindung steht. Der ganze kleine Apparat, der ungefähr 7—8 *cm* Höhe mißt, ist auf einem kleinen Holzbrettchen fixiert. Um den Apparat mit Wasser zu füllen, verbindet man *B* durch einen Kautschukschlauch mit dem unteren Tubus eines mit Wasser gefüllten, erhöht aufgestellten Gefäßes; die Luft entweicht durch die Kapillare *C*, durch zweckmäßiges Neigen des Apparates kann man leicht die letzten Luftblasen entfernen, die an den Glaswänden oder an den Wurzeln haften. Wenn das Rohr *C*

Fig. 176.



Einfacher Apparat von *Vesque* zur Messung der Transpiration.

Fig. 177.



Apparat von *Krutitzky*, nach *Burgerstein* l. c.

mit Wasser gefüllt ist, verschiebt man es mit dem Finger, zieht den Kautschukschlauch von *B* ab, verschließt auch *B* mit dem Finger und schmilzt an der Lampe das Ende des Rohres *C* ab. Indem die Pflanzenwurzeln beständig Wasser aufnehmen, sinkt das Wasserniveau in *B* und man kann leicht die Menge des verschwundenen Wassers messen; die Menge des durch Transpiration abgegebenen Wassers zeigt die Gewichtsabnahme des Apparates an. Im Experiment entfernt man mit Filtrierpapier das Wasser jenseits der Einschnürung von *B*, wägt dann den Apparat möglichst schnell, merkt sich die Zeit und überläßt ihn dann sich selbst. Die Versuchsdauer muß möglichst lang sein, damit die kurze Zeit zwischen der Ein-

stellung bei *a* und der Wägung vernachlässigt werden kann. Bei Beendigung des Versuches wägt man von neuem und betrachtet den Gewichtsverlust als Transpirationsgröße. Dann schüttet man in das Fläschchen *F*, das schon früher erwähnt worden ist, nachdem dieses zur Hälfte mit Wasser gefüllt und gewogen wurde, Wasser in die Röhre *B*, bis wieder das Niveau von *a* erreicht ist und wägt das Fläschchen wieder, dessen Gewichtsverlust das aufgenommene Wasser angibt. Es ist übrigens nicht notwendig, das Fläschchen zu wägen, es genügt, die Pflanze am Schlusse des Experimentes zu wägen, in die Röhre *B* aus dem Fläschchen Wasser einzugießen, bis das Niveau *a* erreicht ist und dann wieder zu wägen; die Gewichtsdifferenz ergibt die aufgenommene Wassermenge. Wenn man gleichzeitig auch das Fläschchen wägt, besitzt man eine wünschenswerte Kontrolle, welche es ermöglicht, Versuche auszuschalten, in die sich ein Fehler infolge der Zeit eingeschlichen hat, die zwischen den einzelnen Operationen verstreicht.

Höchst einfach ist auch der von *Krutitzky* erfundene Apparat (Fig. 177), mit dem Transpiration und Wasseraufnahme gleichzeitig bestimmt werden kann.[1]) Auf die Schale einer Federwage wird ein Glasgefäß gestellt, in das die in Erde eingewurzelte Versuchspflanze gestellt wird. Der Topf besitzt nahe der Basis einen Tubus, in den ein doppelt gebogenes Siphonrohr abzweigt, das in einen aräometerähnlichen Schwimmer taucht, der in einem nahe der Wage stehenden, mit Wasser gefüllten Glaszylinder stabil schwimmt. Seitlich von diesem Apparat steht auf einem Stativ ein *Mariotte*sches Gefäß, welches dazu dient, das Wasserniveau im Zylinder konstant zu erhalten. Die freie Oberfläche im Schwimmer kann mit einer Ölschichte bedeckt sein. Saugt die Pflanze durch den Siphon Wasser aus dem Schwimmer, so hebt sich dieser und zeigt, da er in Kubikzentimeter eingeteilt ist, die Menge des aufgenommenen Wassers. Andrerseits gibt der Zeiger auf dem Zifferblatt der Wage das jeweilige Mehr- oder Mindergewicht des Topfes samt Pflanze in Grammen an. Der Apparat kann selbstregistrierend eingerichtet werden. Zu diesem Zweck befindet sich auf dem Schwimmer nahe seiner Mündung ein Korkring, auf dem eine Glasnadel mit einem Gegengewichte befestigt ist, diese berührt wieder die berußte Oberfläche einer Trommel, welche um eine vertikale Achse drehbar, in 24 Stunden eine Umdrehung macht.

Gehen wir nun zu den sehr genauen, aber auch entsprechend komplizierteren Transpirometern über, so seien hier nur die von *Ganong*, den *Trauseau*[2]) vereinfacht hat, von *Anderson*, *Woods* und *Vesque* genannt.

Das selbstregistrierende Transpirometer von *Ganong* (Fig. 178) besteht aus einem Zylinder, der auf einem Spiralgeleise zwischen Außen- und Innenwand an 250 Kugelgewichte von 1 *g* trägt. Diese Gewichte sind Kugeln

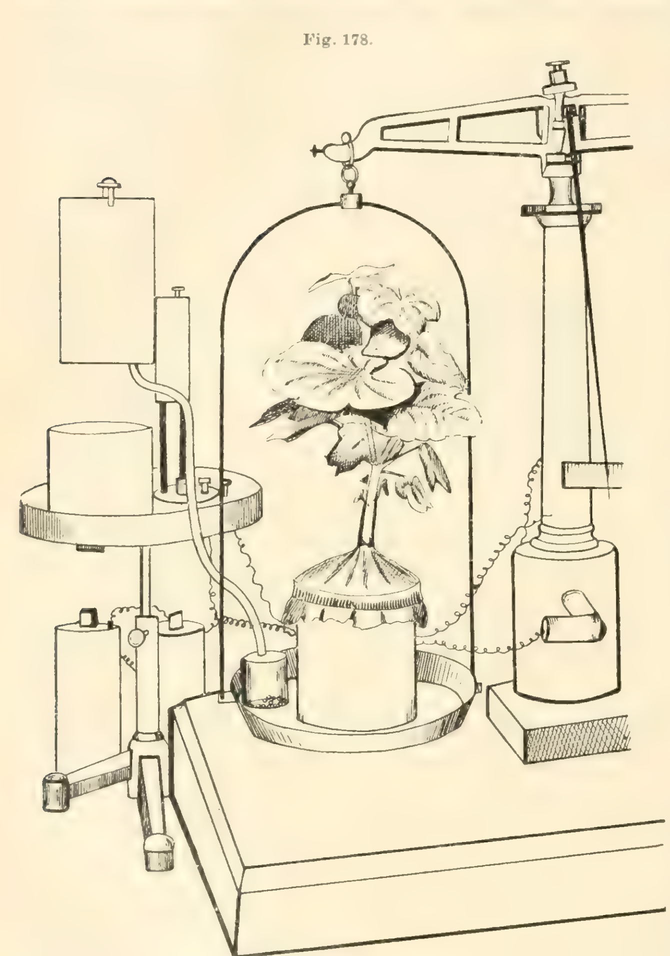
---

[1]) *D. Krutitzky*, Bot. Ztg. Bd. 36, S. 161 (1878).

[2]) *E. Trauseau*, Botan. Gaz. Vol. 52, p. 57 (1911).

aus Stahl von $1\frac{1}{2}$ Zoll (englisch) Durchmesser, wie wir sie auch bei der *Anderson*schen Wage kennen lernen werden, welche untereinander nicht mehr als ca. 1 *mg* an Gewicht variieren. Diese versorgen durch ihre Schwere einzeln eine einfache Fallklappe, welche so angebracht ist, daß, wenn durch einen Elektromagneten ein Antrieb ausgeübt wird, eine gleitende Bewegung entsteht, die einen Ball durch eine Röhre in eine Wagschale fallen läßt, worauf sofort ein neuer Ball dessen Platz auf der Gleitfläche einnimmt. An dieser Fallseite ist ein Stab angebracht, an dem eine Schreibfeder so adjustiert ist, daß sie die Gleitbewegung in Tätigkeit setzt, d. h. immer, wenn eine Kugel fällt, zeichnet die Feder mit Chromographentinte eine feine vertikale Linie auf dem Registrierpapier, das durch einen rotierenden Zylinder langsam vorbeigeführt wird. Die Pflanze wird in der für Transpirationsversuche üblichen Weise befestigt und befindet sich im Gleichgewicht auf der Wagschale irgend einer guten analytischen Wage, während das Transpirometer daneben adjustiert ist. Wenn die Pflanze bei der Transpiration Wasser abgibt, erhebt sich diese Wagschale und berührt auf der Höhe ihrer Schwingung einen Draht, wodurch ein elektrischer Strom geschlossen wird. Dieser setzt einen Elektromagneten in Tätigkeit, welcher dann das Gleiten der Bälle bewirkt und eine Kugel in die Wagschale fallen läßt; diese wird dadurch sofort herabgedrückt und der Strom mithin unterbrochen. Dadurch entsteht ein Zeichen auf

Fig. 178.



Ganongs selbstregistrierendes Transpirometer.

dem Registrierpapier. Dieser Vorgang vollzieht sich dann jedesmal wenn die Pflanze 1 *g* Wasser verloren hat. Die Registriertrommel dreht sich einmal in 24 Stunden um ihre Achse und das Papier ist in numerierte Abschnitte rastriert, welche den Stunden entsprechen. Diese Räume sind wieder in 12 Teile untergeteilt, von denen also jeder 5 Minuten entspricht. Jeder von ihnen ist 1 *mm* breit, so daß man also auch gewöhnliches Millimeterpapier verwenden kann. Diese Teilstriche wiederum können leicht abgelesen werden, so daß man durch Schätzung auch Zwischenräume von einer Minute bestimmen kann. Daher ist es möglich, von der Trommel direkt die Zahl der Minuten abzulesen, welche vergehen während die Pflanze 1 *g* Wasser verliert, welche Zahlen leicht in andere Daten umgewandelt werden können. Nach horizontaler Richtung ist das Papier in 7 Räume geteilt, welche durch Anfangsbuchstaben bezeichnet werden, die je einem Tage der Woche entsprechen. Die Feder gleitet auf dem Stabe, welcher 7 Einkerbungen enthält: jeden Tag, wenn die Pflanze (alle 24 Stunden) begossen und das Uhrwerk aufgezogen wird, gleitet die Feder dem Stabe entlang, um eine Einkerbung tiefer. Jeder Streifen des Registrierpapiers reicht daher für eine Wochenarbeit. Der Dreifußständer des Apparates ist nach der Höhe verstellbar und kann entsprechend eingestellt werden, während des Gebrauches wird die Apparatur von einer Glasglocke bedeckt arbeitend gelassen. Für den Gebrauch im Freien ist es besser, den Gewichtszylinder und die Registriertrommel getrennt aufzustellen, so daß man die letztere an beliebigem Orte, im Laboratorium, im Zimmer etc. placieren kann, während das Meßinstrument beliebig entfernt davon arbeitet. Die Gewichte sind gewöhnlich Grammgewichte, aber es können natürlich auch leichtere oder schwerere Verwendung finden.

Der Apparat *Transeaus* besteht aus einem Hygrothermograph, einem Chronographen, einer chemischen Wage, Gewichtssenkvorrichtungen und Bespritzvorrichtungen, er ist besonders für mehrere gleichzeitige Beobachtungen geeignet, indem hier mehrere Federn an dem Chronographen befestigt sind, so daß man die gleichzeitige Arbeit mehrerer Instrumente vermeidet, was nicht nur wegen der geringeren Kosten, sondern auch deshalb wünschenswert ist, weil dadurch die Fehlerquelle vermieden ist, die durch mehrere Uhrwerke hervorgerufen wird. Der Chronograph hat eine achttägige Bewegung und aktiviert einen horizontalen Zylinder von 15 *cm* Länge und 15 *cm* Durchmesser: die Federn ziehen eine ununterbrochene Linie, außer wenn sie durch einen Elektromagneten beiseite gezogen werden. Das Instrument trägt vier Federn, es können aber noch vier dazu angebracht werden. Durch Verlängerung oder Verkürzung der Uhrfeder kann der Raum, welcher von der Feder begangen wird, von 2 *mm* auf 5 *mm* geändert werden: in letzterem Falle macht der Zylinder in ca. 4 Tagen eine volle Umdrehung, verwendet wird ein Streifen gewöhnlichen Millimeterpapiers. Wie in *Ganongs* Transpirograph hangen die Aufzeichnungen der Wasserverluste mit der Tätigkeit eines elektrisch betriebenen Mechanismus zusammen, welcher ein bestimmtes Gewicht in Gestalt eines kleinen

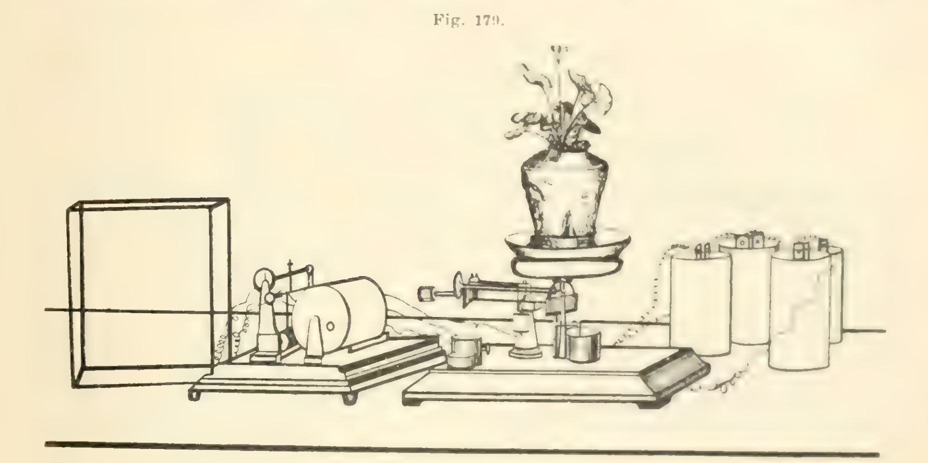
Balles (1¼ Zoll [englisch]) auf die Wagschale wirft, wenn diese eine gewisse Höhe erreicht hat. Der Stromschließer besteht aus zwei Platinenden gerade unterhalb der Fallröhre und diese taucht in ein kleines mit Quecksilber gefülltes Gefäß auf der Wagschale, wenn das Gleichgewicht eingestellt ist. Für Xerophyten mit sehr geringer Wasserabgabe verwendet man statt 1 *g*-Gewichte solche von 0·4 *g*. Der Intervall zwischen 2 Ablesungen soll 2 Stunden nicht übersteigen. Wenn große Unterschiede zwischen Tag- und Nachttranspiration bestehen, kann man für die erstere die größeren, für die letztere die kleineren Gewichte verwenden. Sehr wichtig ist, daß der Boden gleich feucht gehalten wird, ein Begießen alle 24 Stunden, wie es gewöhnlich geübt wird, ist nicht genau genug. Der hier verwendete Wässerungsapparat besteht aus einem schlanken durchlöcherten Gefäß in Form eines schmalen Zylinders, welches leicht in die Erde des Topfes eingedreht wird, nachdem man etwa mit einem Korkbohrer eine Erdsäule entfernt hat, die etwas enger ist als der Bewässerungszylinder. Dieser wird dann durch Glas und Kautschuk mit einem horizontalen Reservoir verbunden, das aus einer flachseitigen Flasche besteht. Diese wird an der Seite der Wagschale, auf der das Aluminiumgefäß steht, in dem sich die Versuchspflanze befindet, durch eine leichte Drahtklammer befestigt, die an einem abgeflachten Kork angebracht ist. Ein Rohr am oberen Ende des Bewässerungsgefäßes gestattet leicht, dasselbe zu füllen. Nachdem das Wasser aufgestiegen ist, wird das Rohr mit Zement verschlossen. Die Luft zum Ersatz des Wassers im Reservoir dringt durch ein Kapillarrohr des Stöpsels ein. Indem man dieses Kapillarrohr unter dem Wasserspiegel verlängert, kann man den Betrag, bis zu welchem das Wasser verdrängt wird, annähernd durch die Zahl der eingedrungenen Luftblasen bestimmen. Das kann auch zu interessanten Feststellungen bezüglich der relativen Zeitintervalle zwischen Absorption und Transpirationsmaximum führen.

Der Apparat von *A. F. Woods*[1]) (Fig. 179) besteht wesentlich aus 2 Teilen, einer Wage und einem Registrierapparat. Die beiden Instrumente sind in einen elektrischen Strom eingeschaltet, der geöffnet oder geschlossen wird, wenn das Gleichgewicht der Wage sich verschiebt. Wenn der Strom geschlossen wird, setzt die Bewegung der Armatur des Magneten, welcher am linken Arme der Wage montiert ist, ein eingekerbtes Rad in Bewegung, welches seinerseits wieder eine große Schraube dreht, die parallel zum Wagebalken angebracht ist. Diese Schraube wirkt in einer Halbmutter, die am Gestell der Gegenwagschale befestigt und so angeordnet ist, daß das Gewicht an jeder Stelle längs des Balkens zum Festsitzen gebracht werden kann. Zum Registrieren der Transpiration wird eine Schraube zur linken benützt, welche das Gewicht von links nach rechts bewegt. Bei der Transpiration hebt sich der rechte Arm der Wage und schließt den Strom oberhalb des Balkens. Die Armatur des Magneten wird dann angezogen und dreht die Schraube, welche das Gegengewicht versorgt. Durch einen

[1]) *F. Woods*, Botan. Gaz. Vol. **20**. p. 473 (1895).

ähnlichen Mechanismus wird gleichzeitig die Feder auf der Registriertrommel entlang geführt, so lange, bis die Wage wieder im Gleichgewicht und der Strom unterbrochen ist. Bei erneuter Wasserabgabe wiederholt sich der Vorgang. Vor störendem Auf- und Abschwingen wird die Wage durch einen Vorstoß bewahrt, welcher an der Stelle des Wagebalkens angebracht ist und der in einer Schale mit Glyzerin arbeitet. Der Mechanismus, der die Feder bewegt, besteht aus einem Elektromagneten und einem gekerbten Rade, welches am Ende einer Schraube befestigt ist, die am rechten und linken Ende einen Faden von gewöhnlichem Pech eingeschnitten hat. Eine zylindrische Schleife gleitet auf dieser Schraube und wird durch einen dünnen Stab unterhalb und parallel zur Schraube geführt, mit dieser Schleife ist die Schreibfeder in Verbindung, welche durch sie leicht geführt wird, indem die Reibung sie genau und fast dort

Fig. 179.



Transpirationswage von W[illegible]

erhält, wo sie hingesetzt wird. Die Armatur des Elektromagneten bewegt direkt die Zähne des gekerbten Rades auf der rechten und linken Schraube, so daß es Zahn um Zahn bewegt wird, immer in einer Richtung mit den Vibrationen des Elektromagneten.

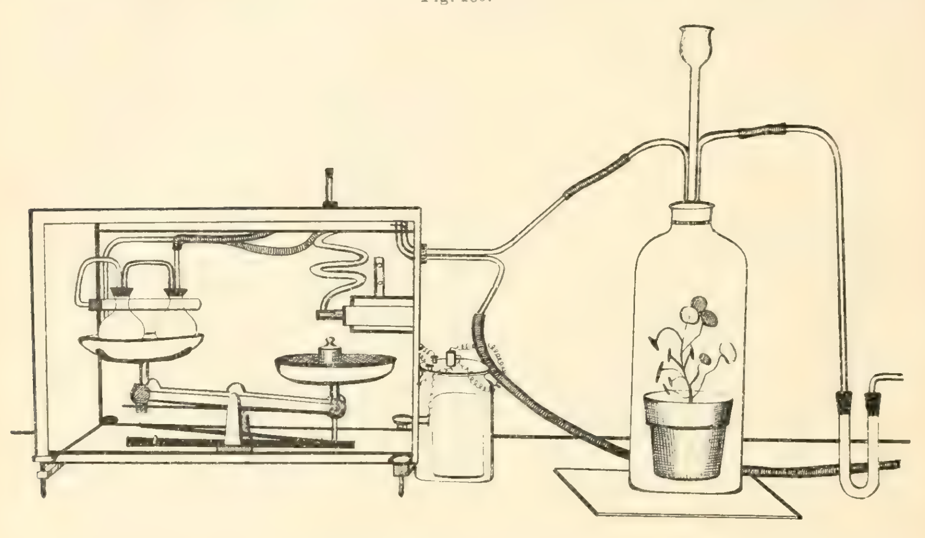
Die *Anderson*sche[1]) Registrierwage (Fig. 180) besteht im wesentlichen aus einer Wage, deren einer Wagarm sinkt, wenn das Gewicht eines wasserabsorbierenden Chlorkalziumgefäßes wächst. Wenn der Arm sinkt, wird ein elektrischer Strom geschlossen und ein elektromagnetischer Mechanismus läßt ein Gewicht los, welches auf den anderen Arm des Wagebalkens oder besser direkt in die Wagschale fällt. So wird die Schale automatisch ins Gleichgewicht gebracht, nachdem ein gleicher Zuwachs des Gewichtes sich eingestellt hat. So wie das Gewicht fällt, wird es auf dem Registrierzylinder verzeichnet, der in jeder beliebigen Entfernung von der Wage

---

[1]) *Anderson*, Minnesota Botan. Studies. Vol. 1. p. 177 (18[illegible]).

aufgestellt sein kann. Die Wage mitsamt dem ganzen Fallmechanismus ist in eine Kassette eingeschlossen, um von Feuchtigkeit bewahrt zu sein. Die Wägevorrichtung besteht aus einer flachen Schale und ist auf $^1/_{50}$ *g* empfindlich mit einer Belastungsmöglichkeit für 5 *kg*. Der Balken ist 11 Zoll (englisch) und mit seinen Stützen an einer Eisenplatte angeschraubt, die am Boden der Kassette montiert ist. Die Messingschalen haben 7 Zoll Durchmesser und werden durch Messingträger gehalten, welche an den Armen des Wagebalkens angebracht sind; die Träger der Wage sind aus Diamantstahl. Der elektromagnetische Balancemechanismus besteht aus einem Gewichtehalter und einem Elektromagneten, ferner aus Metallkontakten auf dem Wagebalken, dem Quecksilbergefäß, Draht und Batterien.

Fig. 180.



*Anderson*sche Registrierung.

Der Gewichtehalter ist eine spiralig zusammengedrehte Messingröhre, welche 125 Stück Gewichte enthält. Am unteren Ende dieser Röhre ist ein Hebel, der an einem Zapfen vor- und rückwärts gedreht werden kann. Ein Ende dieses Hebels ist durch einige Kettenglieder mit der Armatur des Elektromagneten verbunden und das andere Ende, welches durch eine Feder an seiner Stelle gehalten wird, wenn der Strom geöffnet ist, trägt eine Gewichtstasche, welche ein Gewicht von der Gewichtsröhre aufnimmt, wenn der Strom sich schließt und läßt es, nachdem es ca. $^5/_{16}$ eines Zolls seitlich geschoben wurde, durch ein Loch in der Messingplatte fallen, von wo es in die Wagschale gleitet. So wie der Strom durch Wiederherstellung des Balkens ins Gleichgewicht wieder geöffnet ist, kehrt der Hebel in seine frühere Stellung zurück und empfängt ein anderes Gewicht aus der Röhre und ist von neuem bereit, es in die Wagschale fallen zu lassen.

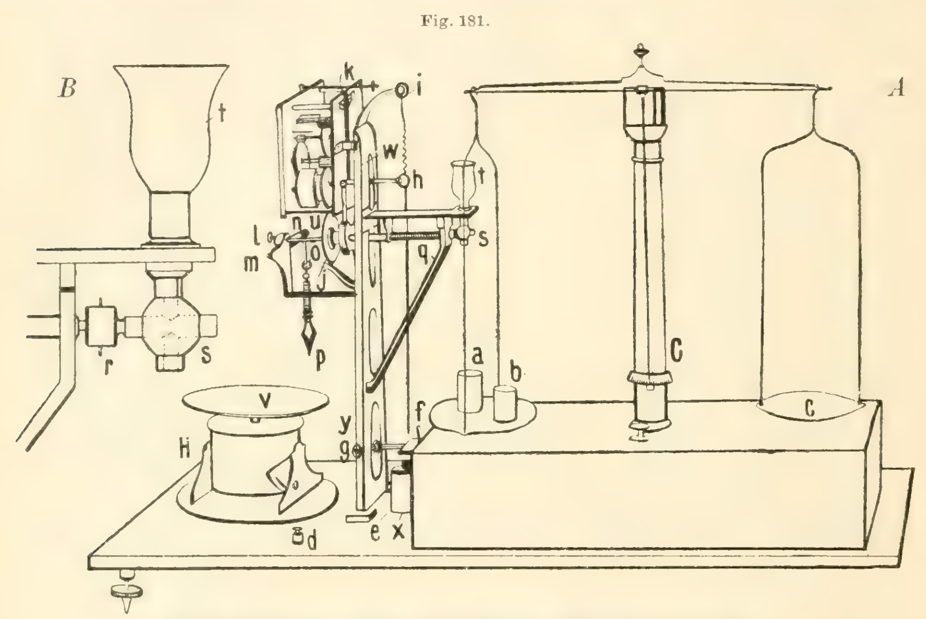
sobald das notwendige Anwachsen des Gewichtes am anderen Ende des Balkens den Strom schließt. Der Gewichtehalter ist etwa $^1/_{16}$ Zoll breiter als der Durchmesser der Gewichte, er ist an den Elektromagneten angeschraubt und erstreckt sich oberhalb und seitlich der Kassette in welche er luft- und wasserdicht durch einen Kautschukstöpsel eingepaßt ist. Er kann also durch einen solchen größeren oder kleineren Kalibers eingetauscht werden, je nach der Größe der verwendeten Gewichte. Gewöhnlich werden Gewichte zu 1 *g* verwendet, Stahlballen, die im Gewichte um nicht mehr als 1 *mg* voneinander differieren dürfen. Das eine Ende des Elektromagnetenkernes ist als Paraboloid geformt; das andere Ende hat einen Hebel, der mit dem Gewichtssenkmechanismus durch verbindende Kettenglieder kommuniziert. Ein gutes Kohle-Zinkelement genügt, um den Mechanismus in Tätigkeit zu setzen. Der Strom geht von der Batterie zu einem Quecksilbergefäß durch den Magneten, dann durch den Kontakt am Wagebalken zu der Verbindungsstelle an der Kassette und von da zur Batterie zurück. Ein mit einem Schwefelsäureabsorptionsgefäß verbundenes $CaCl_2$-Rohr wird auf die eine Wagschale gestellt. Die vorher getrocknete Luft, welche die Transpirationsfeuchtigkeit aus der Versuchsglocke mit der Pflanze fortführt, wird durch die Absorptionsgefäße mit Hilfe eines Aspirators durchgeführt. Zwei Kautschukschläuche verbinden den Absorber mit der Glocke und dem Aspirator vermittelst durchgesteckter Glasröhren. Die Kautschukschläuche befinden sich im Innern der Kassette und können von außen nicht angegriffen werden, bewegen sich mit der Wagschale und den Absorptionsgefäßen. Beim Beginn des Versuches werden beim Tarieren der Wage diese Kautschukschläuche zum Teil mitgewogen und bilden einen Teil vom Gewichte des Absorptionsgefäßes, was aber im Vergleich, da ihr Gewicht konstant bleibt, keine Fehlerquelle bedeutet.

Der Registrierapparat von *J. Vesque*[1] beruht auf folgendem Prinzip (Fig. 181 *A* und *B*): Auf der einen Schale einer sehr empfindlichen Wage steht ein kleines Glas *b* mit Wasser, das von einer Ölschichte bedeckt ist. Eine in einem festen Zylinder befestigte Pflanze nimmt daraus ihr Wasser mittelst einer 2mal gebogenen Kapillarröhre. Dadurch wird das Gewicht der Schale geringer und die Wagschale *c* sinkt. Ein kleiner Platinkontakt, der unterhalb dieser Wagschale befestigt ist, berührt das in einem kleinen Eisennapf befindliche Quecksilber (in der Figur durch die Wagschale *c* gedeckt) und schließt einen elektrischen Strom, der durch den Elektromagneten *x* streicht. Der Kern *f* wird angezogen und gibt die Drehungsbewegung der Achse von Hahn *s* frei, welche durch ein Uhrwerk bewirkt wird. Dieser Hahn ist ungebohrt und trägt an zwei entgegengesetzten Enden zwei gleiche konische Ausnehmungen. Das kleine Gefäß *t* ist mit Quecksilber gefüllt und ergießt nach jeder halben Umdrehung des Hahnes stets eine genau gleiche kleine Quantität, etwa 0·09 *g* Quecksilber in das Glas *a*. Gleichzeitig mit Beendigung dieser halben Umdrehung

[1]) *J. Vesque* l. c.

senkt sich der Schreibstift *p* und schreibt eine Punktmarke auf die rotierende Trommel *v*. Die Wage ist auf einem Holzblock befestigt, eine ihrer Schalen trägt zwei kleine Gläser, von denen das eine, *a*, die Quecksilbertröpfchen enthält, die herausfallen sollen, das andere, *b*, das Wasser, welches zur Aufnahme durch die Pflanze bestimmt ist. Das Wasser ist von einer Ölschichte bedeckt, um die physikalische Wasserverdunstung auszuschließen. Die Wagschale *c* trägt mitten an ihrer Unterseite die kleine Platinöse, die in den Quecksilbernapf eintaucht, wenn der Wagebalken eine bestimmte Neigung erreicht hat. Eines der Elektroelemente ist an der Klemme *d* befestigt, die an der Unterseite des Blockes mit der Wagesäule *C*

Fig. 181.



Vesques Apparat zur Wägung der Absorption (Beschreibung im Text).
A Gesamtbild. *B* Hahn mit Quecksilbergefäß vergrößert.

kommuniziert, von hier geht der Strom durch die Aufhängeschneide in die Schale *c*. Wenn die Platinöse eintaucht, gelangt er durch *e* in den Elektromagneten *x* und kehrt ins Element zurück. Die Achse des Hahnes *s* ist mit Hilfe eines Stiftes *r* (Fig. 181 *B*) an der Welle *lq* befestigt, von drei Stützen unterhalten und trägt ein gezahntes Rad *u*, das durch die Bewegung des Uhrwerkes gedreht wird, und ein Rad *j*, das an zwei entgegengesetzten Punkten eingekerbt ist. Die Uhrfeder *q* sucht die Welle beständig in den Hahn einzuführen. Der vertikale Schenkel des gebogenen Hebels *hj*, der um die Achse *w* sich dreht, ist durch eine kleine Rolle begrenzt, die an der Peripherie des Rades *j* läuft, bis einer der Einschnitte sich darbietet, dann senkt sich infolge des Zuges, den die Feder *ih* am anderen Ende ausübt, der Hebel; eine kleine vertikale Stange, die am Knie des Hebels

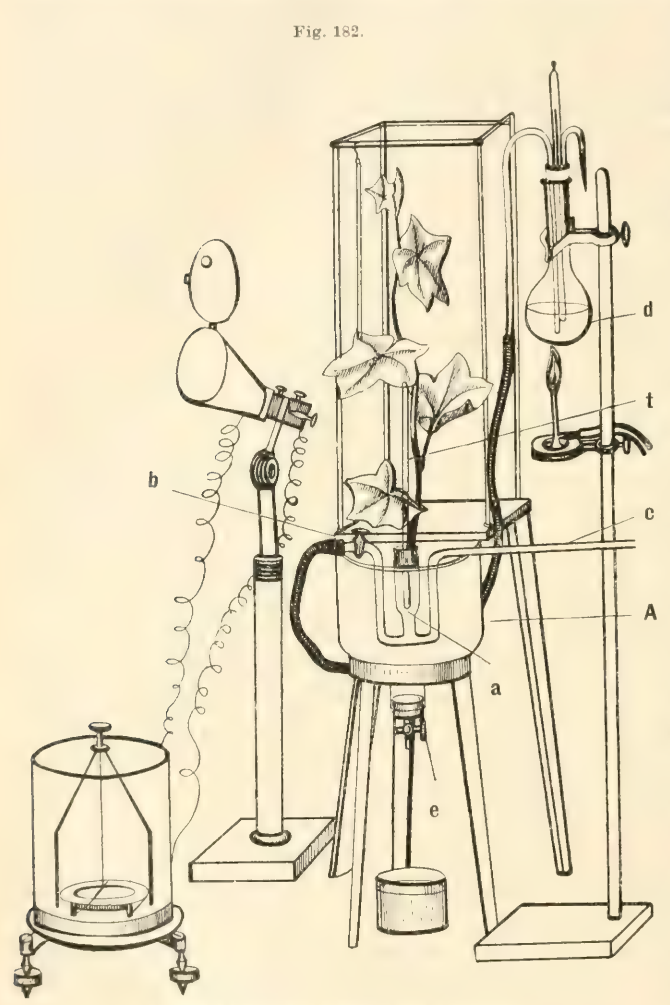
angebracht ist, senkt sich gleichzeitig und läßt den kleinen Sperrhaken fallen, der das Uhrwerk zum Stehen bringt. Wenn der elektrische Strom den Elektromagneten durchläuft, wird das Stück F, das um Punkt y beweglich ist, angezogen und zieht mittelst des Seidenfadens fh den Horizontalarm des Hebels mit; der Haken k wird emporgehoben, die Bewegung setzt ein und bewirkt eine halbe Umdrehung der Stange h, bis sich dem Hebel von neuem eine Einkerbung des Rades j darbietet. Ein Quecksilbertröpfchen von 0·09 g wird dann in das Glas a geschüttet, die Schale c der Wage steigt in die Höhe und der Strom ist unterbrochen. Der Hahn muß besonders sorgfältig gearbeitet sein, wobei großes Gewicht auf die absolute Gleichmäßigkeit der beiden Ausnehmungen und auf die leichte gegenseitige Verdrängung von Luft und Quecksilber zu legen ist. Der Schenkel l der Hahnstange trägt einen Hebearm, der bei jeder halben Umdrehung auf den um m beweglichen Hebel mn aufdrückt. Der Hebel seinerseits bewirkt eine Senkung der Spitze p, die ein kleines Loch in die Scheibe v einsticht und dann wieder durch die Wirkung einer Feder an ihren Platz zurückkehrt.

Es seien hier die ausführlichen Beschreibungen von *Vesque* als Beispiel einer Versuchsanstellung gegeben, wenn man nicht mit dem selbstregistrierenden Apparat arbeitet:

1. **Die Größe der Absorption wird durch Wägung bestimmt.** Auf die eine Wagschale einer etwa auf 5 *mg* genauen Wage ohne Gehäuse wird ein etwa 6 *cm* hohes, mit Wasser gefülltes Gläschen gestellt. Die Pflanze, welche ihre Wurzeln in Wasserkultur entwickelt hat, ist an ein Thermometer angebunden, das ihr als Stütze dient und dessen Kugel beiläufig in der Mitte des Wurzelsystems steckt; die kleinen Würzelchen sind durch einen locker gebundenen Faden zu einem Zopf vereinigt. Eine Klemme hält Thermometer und Pflanze in aufrechter oder leicht geneigter Stellung, so daß die Wurzeln ganz im Wasser schwimmen, ohne am Boden oder an den Wänden des Gefäßes anzustoßen. Auf die Wasserfläche wird, um die Verdunstung zu hindern, eine dünne Ölschichte gegossen, die auch zarten krautigen Stengeln kaum schadet; die Wurzeln bleiben so drei Wochen lang völlig gesund und erst nach dieser Zeit beginnen sie sich schwarz zu färben, die oberirdischen Organe waren aber noch vierzehn Tage nachher ganz intakt. Nachdem die Wage tariert ist, wird neben das Gefäß auf die Wagschale ein 20—30 *mg*-Gewicht aufgelegt. Die Pflanze nimmt Wasser auf, das Gleichgewicht wird wieder hergestellt und die Zeit notiert, die von Beginn des Versuches bis zu diesem Moment verläuft. Die Schwingungen der Wagezunge werden, um sie nicht zu beeinflussen, mit einer Lupe aus einiger Entfernung beobachtet. Diese Methode gibt bei gewöhnlichen Temperaturverhältnissen und genügend langen Beobachtungszeiten ausgezeichnete Resultate, aber die Einzelversuche dauern sehr lang; um die Temperatur des Wassers zu ändern, muß man die Luft des Arbeitsraumes anders temperieren, wobei sich aber wieder die Transpirationsverhältnisse ungleichmäßig ändern. Eine einfache Heizvorrichtung, welche am wenigsten

Übelstände zeigt, besteht darin, daß neben die Wage ein zylindrisches Glas- oder Metallgefäß gestellt wird, dessen Ausbuchtung ins Wasser taucht, ohne die Wand des Wassergefäßes zu berühren. In diesen Zylinder läßt man einen Strom warmen Wassers laufen, den man durch einen Hahn reguliert, wodurch man beliebige Temperaturänderungen herbeiführen kann. Freilich sind so Täuschungen infolge der Ausdehnung des Gefäßes und infolge der kleinen am Glas oder Metall haftenden Luftblasen nicht ausgeschlossen; so senkte sich die Wagschale, sobald das heiße Wasser in dem Glasgefäß zu rinnen begann, sofort und bei einer Temperatur von 30 bis 40° C war eine Zugabe von 0·15 *g* zur Wiederherstellung des Gleichgewichtes notwendig. Der Versuch darf also erst begonnen werden, bis ein Temperaturgleichgewicht hergestellt ist.

Fig. 182.



Vesques Apparat zur Messung der Absorption.

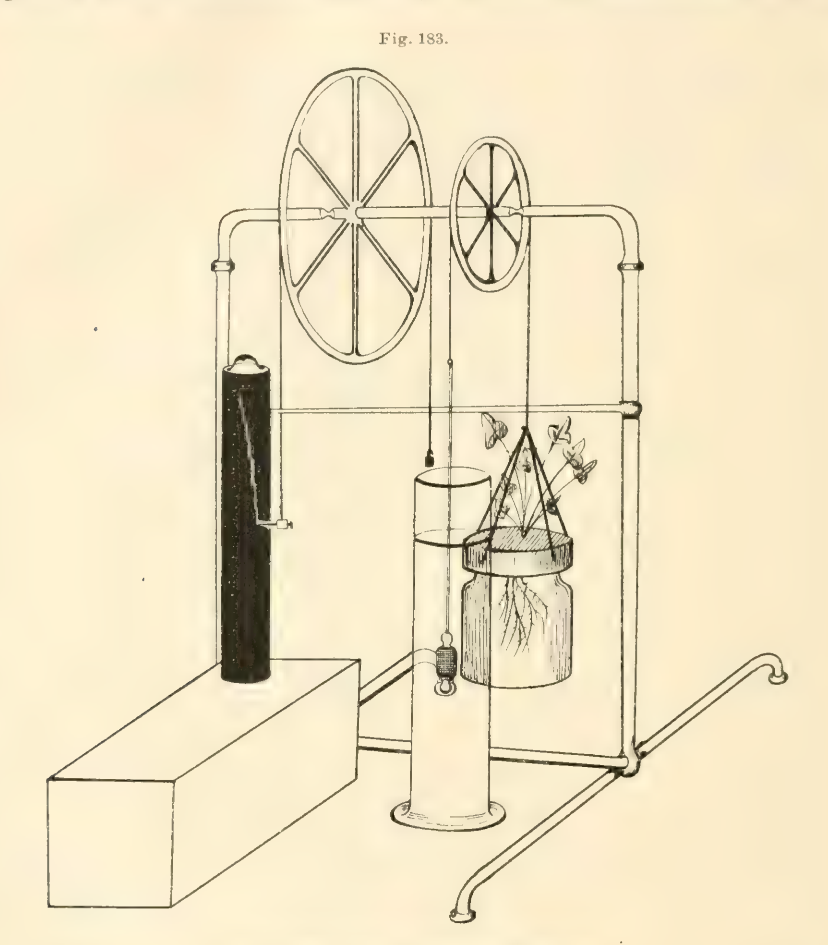
2. Die Absorption wird gemessen: Das Wurzelsystem wird hermetisch in einem kleinen Glaszylinder befestigt (Fig. 182). *a* ist das erweiterte Ende eines Trichterrohres, welches zur Aufnahme der Pflanzenwurzeln dient. Der Stöpsel trägt außer der Pflanze ein in Zehntelgrade eingeteiltes Thermometer, welches zur Anzeige der Temperatur des die Wurzeln umgebenden Wassers dient. Um die Wassermenge zu vermindern und die immer wenig Sicherheit gewährenden Stöpsel zu vermeiden, kann man folgende Versuchsanstellung verwenden: Die Röhre *b* (durch einen Glashahn verschließbar) dient zum Einstellen

von Wasser aus der Flasche *d* in den Zylinder *A*. Die Röhre *c*, deren innerer Durchmesser sehr klein ist, ist geaicht und soll die Schnelligkeit der Absorption messen. Der ganze Apparat befindet sich in einer umgekehrten Glocke von einem Fassungsraum von [illegible], die mit Wasser gefüllt ist; der Hahn *e*, der den Tubus der Glocke schließt, ermöglicht den Ersatz von kaltem durch wärmeres Wasser. Um die Temperatur während der Versuchszeit konstant zu erhalten, dient folgendes Verfahren: Der Zylinder *A* ist als Kugel eines Thermometers zu betrachten, dessen Säule die Röhre *c* ist. Dieses wassererfüllte Thermometer ist in Zehntelgrade eingeteilt. Die Graduierung geschieht durch das im Stöpsel steckende Thermometer *t*. Es genügt, die Temperatur des Wassers unter Ablesung des Thermometers *t* zu erhöhen und gleichzeitig den Meniskus des Wassers in der Röhre *c* zu markieren. Dabei muß natürlich angenommen werden, daß der Ausdehnungskoeffizient von Pflanzenwurzeln und Wasser derselbe ist, was aber wohl kaum jemals der Fall ist; man kann das Thermometer auch kalibrieren, wenn die Pflanze schon in *A* eingeschlossen ist, aber dann muß der Temperaturwechsel sehr rasch vorgenommen werden, damit die Pflanze währenddessen keine erhebliche Quantität Wasser aufnimmt, was zu erreichen immer schwierig ist, so daß der ersten Methode der Vorzug gebührt. Wenn der Apparat also kalibriert ist, wird 0·1 Einteilungsgrad als Volumeneinheit genommen und die Ausdehnungsgröße des Wassers in der Röhre *a* gemessen. Angenommen die Anfangstemperatur sei 15° C. Ich will nun die Absorption während einer Temperaturerhöhung von 15° auf 20° beobachten; während des Versuches macht z. B. der Meniskus von *a* nach *c* den Weg von 30 Einheiten der Teilung. Die Ausdehnung an und für sich läßt ihn $5 \times 10 = 50$ Teilungseinheiten fortschreiten; die Absorption betrug also $50 - 30 = 20$ Einheiten. Diese Methode hat manche Nachteile: die Kalibrierung der Röhre, welche eine Fehlerquelle ist, die Ungleichheit der Ausdehnung von Wurzeln und Wasser, die fortwährende Änderung der Ausdehnung durch den Druck des eingeschlossenen Gases. Ein kleiner Kunstgriff gestattet vielleicht die peinliche Konstanterhaltung der Temperatur zu vermeiden. Angenommen, wir sollen die Absorption bei ca. 25° messen, während die Temperatur des Laboratoriums 15° beträgt. Man erwärmt das Wasser der Glocke *A*, indem man nach und nach warmes Wasser zufließen läßt. Wenn das Thermometer *t* 25° anzeigt, hört man auf, liest die Stellung des Meniskus in *c* ab und notiert die Zeit. Die Temperatur des Zylinders *a* erhöht sich noch ein wenig und das Thermometer zeigt z. B. nach einer bestimmten Zeit die Maximaltemperatur 27° C. Bis hierher kann die Bewegung des Meniskus keine präzise Ablesung ermöglichen, weil sie gleichzeitig von der Ausdehnung des Wassers und der Absorption bestimmt wird. Aber von diesem Zeitpunkte an sinkt die Temperatur und erreicht nach einiger Zeit 25° C. Jetzt liest man den Stand des Meniskus ab, bezeichnet die Zeit und hat so den Einfluß der Ausdehnung ausgeschaltet. Man erhält so die Absorption bei einer Temperatur zwischen 25–27° C. Man muß sehr langsam arbeiten, um den Gasen die [illegible]

Pflanze zu ermöglichen, sich in den Luftwegen der Pflanze frei zu bewegen, ohne in den Wurzeln lokale Drucke auszuüben, welche die Absorption beeinflussen müßten.

Schließlich möge noch die Beschreibung des selbstregistrierenden Apparates von *Copeland*[1] Platz finden (Fig. 183), und zwar vor allem deshalb, weil im Gegensatz zu den vorstehenden selbstregistrierenden Instrumenten die Kosten

Fig. 183.



Selbstregistrierender Apparat von *Copeland*.

dieses Apparates bei gleicher Leistungsfähigkeit bedeutend geringer sind als die jener; der ganze Apparat stellt sich auf beiläufig Mk. 150·—. Das aus Eisenrohren hergestellte Gestell ist 25 Zoll (englisch) hoch und 15 breit. Jeder Arm endigt an seinem oberen Teil in ein stabförmiges Stück Spiegelglas, das mit seiner Oberseite horizontal liegen muß. Zwei Aluminiumräder von 6 und 12 Zoll Durchmesser, so ausgeschnitten, daß sie möglichst

[1]) *Copeland*, Botan. Gaz. Vol. **26**. p. 343 (1898).

leicht und vollkommen zentriert sind, besitzen eine gemeinsame Achse, deren Enden schmale Zylinder vorstellen, welche auf den genannten Glasplatten rollen. Über das kleinere Rad läuft eine Seidenschnur, die einerseits die Versuchspflanze, andrerseits ein im unterpurnachten Zustande im Gleichgewicht schwimmendes Aräometer trägt. Dieses besteht aus einem halb mit Quecksilber gefüllten Fläschchen mit einem gut schließenden Stöpsel, in dem eine Glasröhre eingekittet ist. Die Seidenschnur ist mit gekochtem Wachs geglättet, so daß die Reibung möglichst verringert ist. Wenn die Pflanze beim Transpirieren Wasser abgibt, sinkt das Aräometer, indem es genau diejenige Wassermenge verdrängt, welche durch Transpiration am anderen Ende verloren gegangen war. Natürlich muß die Schnur, welche durch die Glasröhre des Aräometers läuft und dort befestigt ist, gegen hygroskopische Änderung ihrer Länge und sorgfältig gegen Berührung mit Wasser geschützt sein. Wenn beispielsweise der Querschnitt des Zylinders $1\ cm^2$ beträgt und sinkt das Aräometer $1\ cm$, so hat die Pflanze $1\ cm^3 = 1\ g$ Wasser verloren. Das größere Rad dreht sich und eine darüberlaufende gespannte Schnur, die mit einer Schreibfeder in Verbindung steht, gestattet die Aufzeichnung der Drehung auf einem rotierenden berußten Zylinder, wie das bei einem Auxanometer geschieht. Wenn der Apparat ordnungsgemäß behandelt wird, zeigt er nur einen Mangel, nämlich die Trägheit der Radlast. Die Achse dreht sich leichter, als dies auf Kugellagern möglich wäre.

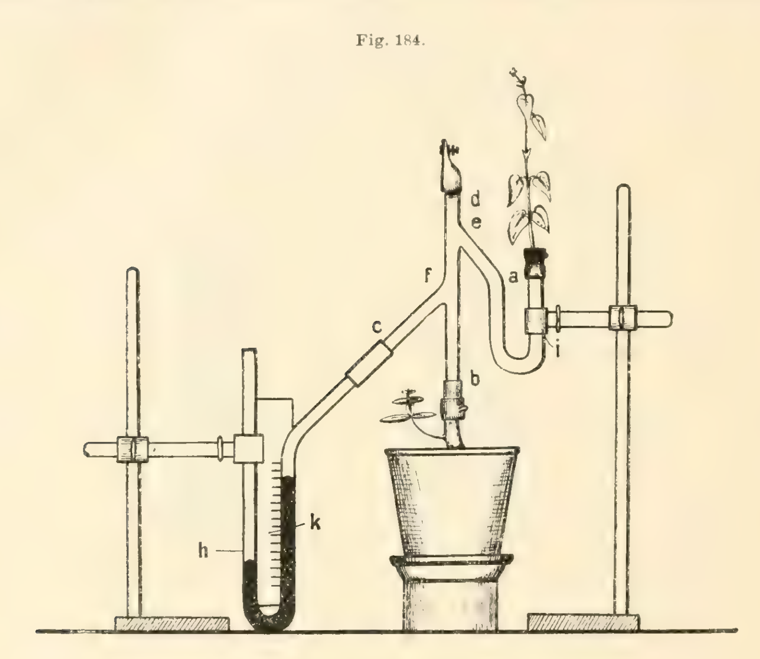
Reibung ist praktisch keine vorhanden, das einzige, was der vollkommenen Leichtigkeit der Bewegung Eintrag tut, ist die Oberflächenspannung des Wassers; aber selbst ihr theoretisches Maximum ergäbe noch keinen sehr beträchtlichen Fehler und jedenfalls ändert sie sich kaum, wenn die Röhre sinkt, sobald diese nur gleichmäßig und rein ist; natürlich muß Zug und unregelmäßige Bewegung vermieden werden. Es können sowohl Topfpflanzen als auch Wasserkulturen verwendet werden; von der Enge der Glasröhre hängt die Empfindlichkeit des Apparates ab: eine dünne Röhre ist geeignet, wenn die Beobachtungsintervalle sehr kurz sind, sonst sinkt das Aräometer so rasch, daß es sehr bald den Boden erreicht. Wenn der Durchmesser ca. $^5/_8\ cm^2$ beträgt, sinkt es $8\ cm$ tief bei einem Wasserverlust von $5\ g$ seitens der Pflanze. Wenn das Aräometer gesunken ist, steigt das Wasser ein wenig, aber das ist keine Fehlerquelle, weil das Wasser in demselben Gefäß war, als die Bewegungseinheiten beim Messen der Abstände auf dem berußten Zylinder bestimmt wurden. Bei den Messungen wird eine Genauigkeit von $0{\cdot}1\ mm$ erreicht. Es ist nicht zweckmäßig, das Rad höher zu belasten als mit $3{\cdot}5\ kg$.

Beobachtung des Transpirationsstromes.

Um in kleineren Pflanzen den Wasserstrom festzustellen, können wir 1. die Arbeit der Wurzeln in Betracht ziehen, also das, was man Wurzeldruck nennt, oder die Saugung durch den Sproß. Wenn wir auf den Wurzelstumpf einer Pflanze, z. B. einer Fuchsie, einen Druckmessungsapparat be-

festigen, so wird das Wasser, welches aus dem Stumpf herausgepreßt wird, imstande sein, das Quecksilber des einen Manometerschenkels in die Höhe zu drücken; wenn man gleichzeitig an dem Sproß derselben Versuchspflanze ein Potometer anbringt, so kann man auch die Saugung durch den Sproß feststellen. Durch die gewaltsame Trennung von Sproß und Wurzel vollziehen sich aber Vorgänge, die ein Urteil von den Erscheinungen bei den getrennten Pflanzenteilen nicht mehr auf die bei der intakten sich vollziehenden Vorgänge übertragen lassen; es empfiehlt sich daher, für solche Versuche einen von *O. V. Darbishire* [1]) beschriebenen und Pinometer (Fig. 184) genannten Apparat zu benutzen, welcher mit Pflanzen zu arbeiten gestattet,

Fig. 184.



Darbishires Pinometer.

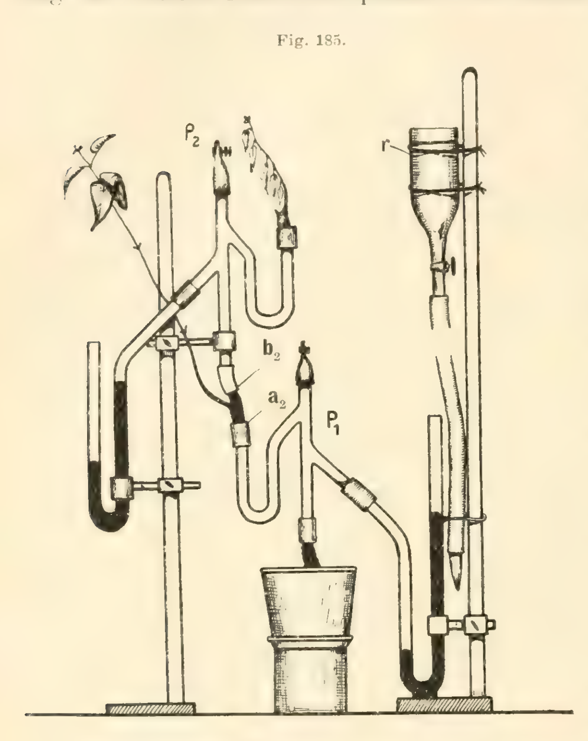
bei denen diese Lostrennung von Sproß und Wurzel nicht vollkommen erfolgt ist, sondern wo die beiden durch ein Verbindungsstück des Apparates in Konnex stehen, so daß, obwohl die Pflanze entzweigeschnitten ist, doch die Sproßsaugung mit dem Wurzeldruck und umgekehrt verbunden ist. Das Pinometer besteht aus einer geraden Glasröhre *b—d*, an welche ein anderes kurzes Glasrohr *c—f* schräg angeschmolzen ist. An der entgegengesetzten Seite ist ein U-Rohr mit schiefem Verbindungsstück angeschmolzen *(a—e)*. Der Apparat besitzt also hier 4 Öffnungen, nämlich *a, b, c, d*. Die lichte Weite der für das Pinometer verwendeten Glasröhren hängt ausschließlich von der Sproßdicke der Versuchspflanze ab, ist unge-

[1]) *O. V. Darbishire,* Botan. Gaz. Vol. **39**. p. 356 (1905).

fähr der Stammdicke entsprechend. Die Glasröhren müssen vor dem Versuch sorgfältig gereinigt sein, weil namentlich kleine Fetteilchen das Eindringen winziger Luftbläschen in das Röhrensystem ermöglichen. Auch die Kautschukschläuche sollen möglichst von Luft befreit und alle Manipulationen überhaupt so schnell als möglich ausgeführt werden. Wenn alle Teile des Apparates zusammengesetzt sind, wird die Pflanze mit ihrem Topf so in eine Untertasse mit Wasser gestellt, daß sie einige Zoll oberhalb des Punktes eintaucht, wo sie durchschnitten werden soll; die Blätter dürfen nicht mehr benetzt sein, als dies absolut notwendig ist. Der Pflanzenstengel wird nun so unter Wasser durchschnitten, daß oberhalb und unterhalb der Schnittstelle beiläufig ein Zoll des Stammes ohne Knospe oder Seitenzweig sich befindet. Wenn der Stamm schon einen vollkommenen Holzkörper besitzt, kann die Rinde einen halben Zoll oberhalb des Schnittes am Sproß und unterhalb an der Wurzel mit einem scharfen Messer entfernt werden. Das untere Ende des Sprosses wird nun, ohne aus dem Wasser gehoben zu werden, mit einem Kautschukschlauch an die Öffnung *a* befestigt und der Teil *a*—*c* des Pinometers bleibt mit Wasser gefüllt, selbst wenn es aus dem Wasser entfernt wird und kann zeitweise durch die Klemme *s* in einem Stativ gehalten werden. Die Pflanze wird am besten durch einen Druckschlauch und eine Schraubenklemme, nicht aber durch Umschnürung fest gehalten. Dann wird ein Stück Kautschukschlauch über das obere Ende des Wurzelstumpfes geschoben, auch dieses mit Wasser gefüllt und nunmehr der ganze Blumentopf weggegeben. Das Ende *b* des Pinometers wird nun schnell mit diesem Schlauchende über dem Wurzelstumpf verbunden, an *c* wird ein Manometer befestigt und Wasser vom Reservoir *r* nach *d* fließen gelassen, bis das ganze Röhrensystem mit Wasser gefüllt ist. Dann wird Quecksilber in den Außenschenkel des Manometers geschüttet und dadurch bewirkt, daß Wasser bei *d* zum Ausfließen kommt, wo ein Druckschlauch fest angebracht worden war. Wenn im Manometer genug Quecksilber vorhanden ist, so daß die Säulen entsprechenden Spielraum zum Steigen und Fallen haben, wird die Öffnung bei *d* durch einen Quetschhahn geschlossen, wodurch der Versuch eingeleitet ist, ein Millimetermaßstab *k* wird am Manometer befestigt. Wenn Luft austritt, sammelt sie sich unter *d*, wenn sie aus irgend einem Teil der Pflanze, den unteren Teil des Sprosses ausgenommen, kommt; sie kann durch Öffnen des Quetschhahnes und Einlaufen von Wasser aus dem Reservoir entfernt werden. Sollte sie sich aber unter *a* sammeln, so muß der Sproß aus dem Kautschuk herausgenommen und ins Glas getaucht werden, worauf man bei *d* vorsichtig Wasser ins Pinometer einfließen läßt; dieses fließt dann langsam bei *a* aus, worauf, nachdem das Wasser jede Spur Luft entfernt hat, der Sproß wieder befestigt wird. Jedenfalls bedeutet eine Luftverdrängung das Öffnen des Queschhahnes bei *d* und das bewirkt wieder einen Rückgang des Quecksilbers zur Ausgangsstellung. Das kann aber vermieden werden, wenn man zwischen das schiefe Stück *c* — und das Manometer einen Stöpsel einschaltet. Das ist übrigens nicht absolut nötig, weil der Apparat ohnehin

kaum für quantitative Zwecke zu benützen ist. Die Resultate, die mit dem Pinometer zu erlangen sind, hängen sehr von der Stelle ab, an welcher man es an der Pflanze befestigt, es sollen daher einige Experimente von *Darbishire* in dessen Beschreibung wiedergegeben werden: Ein Pinometer wurde am Hauptsproß durch Abschneiden des Stammes ein wenig oberhalb des untersten Seitensprosses befestigt. Kurze Zeit darauf stieg das Quecksilber in dem der Versuchspflanze zugekehrten Manometerschenkel, da diese aus dem Pinometer Wasser ansaugte. Sobald das Quecksilber steigt, wird der Zug am unteren Ende des Sprosses und oberen Ende des Wurzelstumpfes der Pflanze stärker, Hand in Hand damit die Blätter des Sprosses oberhalb welker, während die Blätter des untersten Seitensprosses ganz frisch bleiben. Hier zeigt sich also, durch das Pinometer angegeben, Saugung durch den Sproß, die auch automatisch registriert werden kann, wenn ein Schwimmer auf der Quecksilberoberfläche des offenen Manometerschenkels bei *h* angebracht wird. Derselbe ist an einem feinen Faden befestigt, der über eine Rolle läuft und andrerseits an dem freien Ende eines Hebels dessen anderes Ende eine Schreibfeder versorgt, die auf einer rotierenden Trommel schreibt. In einem anderen Versuch wurde das Pinometer an einer Fuchsie befestigt, und zwar ca. einen Zoll über der Erde und knapp unterhalb des untersten Seitenzweiges. Hier zeigte sich der Wurzeldruck sehr bald und das Quecksilber wurde aus dem inneren Schenkel herausgedrückt und stieg schnell im anderen Manometerschenkel. Die Blätter des Sprosses blieben so lange frisch, als der Druck andauerte, nämlich 16 Tage, an diesem Tage war der Höhenunterschied der beiden Manometerschenkel 20 *mm*. In einem dritten Versuch wurden zwei Pinometer (Fig. 185) verwendet. Eines war an einer Fuchsienpflanze gerade oberhalb der Erde befestigt, ein anderes gerade oberhalb des untersten Seitenzweiges. Die Pflanze war somit in drei Teile geschnitten, deren unterster, der Stumpf, jedes Seitenzweiges beraubt war. Das an dem unteren Pinometer P_1 be-

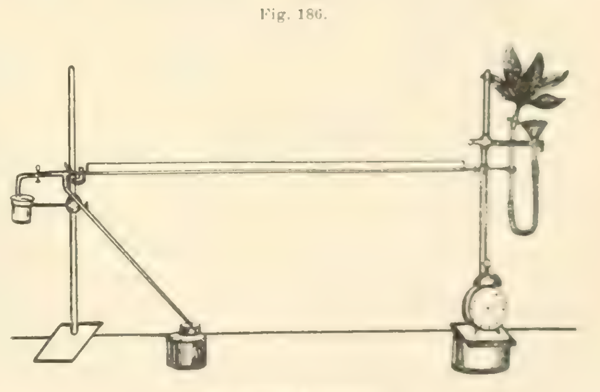
Fig. 185.



Zwei *Darbishire*sche Pinometer in gemeinsamer Arbeit.

festigte Manometer zeigte sehr bald Wurzeldruck, das des oberen Pinometers P_2 Saugung von seiten der beiden Sproßteile an. Wurzeldruck und Sproßsaugung können also hier gleichzeitig beobachtet werden. Der Unterschied im Aussehen der Blätter an den beiden Sproßteilen war sehr auffallend. Die Blätter des oberen Sproßteiles waren tot, hier war ein starker Zug am unteren Ende vorhanden. Die Blätter des mittleren Sprosses waren frisch, da hier am unteren Ende ein Druck vorlag, obzwar das untere Pinometer von dem oberen nur durch zwei Zoll etwa getrennt ist (zwischen a_2 und b_2). Nach vierzehn Tagen zeigte eine neuerliche Ablesung eine Differenz von 18 *mm* in der Höhe der beiden Quecksilbersäulen im unteren Pinometer, was einen Druck von seiten der Wurzel anzeigte, und eine Differenz von 20 *mm* im oberen Pinometer, eine Saugung seitens des Sprosses anzeigend. Auch mit drei Pinometern wurde an einer Fuchsie ein Versuch ausgeführt. Nach einiger Zeit zeigte das untere Pinometer Wurzeldruck mit einer Differenz von 31 *mm* der Quecksilbersäulen, das mittlere zeigte Saugung mit einer Höhendifferenz von 85 *mm* und das obere Pinometer ebenfalls Saugung mit 63·5 *mm* Differenz. Die Zahlen waren am nächsten Tag in Millimetern: 39 (Zunahme um 8 *mm*), 127·2 (also 42·2) und 128 (d. i. 64·5). Die zwei unteren Pinometer befanden sich unterhalb der untersten Zweige. Das hier beschriebene Pinometer ist vor allem für Vorlesungs- und Demonstrationsversuche geeignet. Natürlich ist das Ansetzen des Pinometers an einen Fuchsiensproß für diesen keinesfalls gleichgültig. Jedenfalls ist es mittelst des Pinometers möglich, die Beziehungen zwischen Wurzeldruck und Sproßsaugung deutlich zu machen.

Fig. 186.



O. Renners Potometer.

Das von *O. Renner*[1]) zur Messung der Wasseraufnahme benützte Potometer (Fig. 186) besteht aus einem ziemlich engen T-Stück, in das der Versuchssproß durch enge kurze Schlauchstücke luftdicht befestigt ist; diese müssen unter Umständen noch durch Bestreichen mit Pumpenfett besonders gedichtet werden. Hat man mehrere Schlauchsorten verschiedener Lumina, so lassen sich Kombinationen für die verschiedenste Dicke der Versuchsobjekte herstellen. Das Darüberschieben der Schlauchstücke über den Stammteil geschieht unter Wasser, worauf unter Wasser die Schnittfläche erneuert wird. Auch durch Ab-

[1]) *O. Renner*, Flora, Bd. 3 (n. F.). S. 173 (1911).

schälen der Rinde läßt sich das Objekt in den Schlauch einpassen. Der Sproß wird nun unter Druckanwendung an seinem Kautschukbesatz in das enge T-Rohr eingeschraubt. An den horizontalen Arm des T-Stückes, dessen enges Lumen Temperaturschwankungen weniger empfindlich fühlbar macht, ist eine ca. 1 *m* lange Kapillarröhre angesetzt, deren ca. 1 mm^2 starke lichte Weite möglichst konstant im ganzen Verlaufe eingehalten sein soll. Am anderen Ende derselben ist ein Kautschukschlauch mit Quetschhahn angebracht, der in das Sauggefäß taucht. Am unteren Ende des T-Stückes befindet sich ein Dreiweghahn, der mittelst eines längeren Kautschukschlauches die Verbindung mit einem wassergefüllten Trichter herstellt, der sich in gleicher Höhe mit dem Versuchssproß befindet. Die seitliche Bohrung, welche den Hahn zum Dreiweghahn macht, und die gewöhnlich durch einen zugedrückten Schlauch geschlossen ist, gestattet Luft auszutreiben, wenn solche aus dem Trichter ins Potometer gelangt ist. Durch Ansaugen des T-Rohres wird die Kapillare vom Sauggefäße her mit destilliertem Wasser gefüllt, dann wird soviel Wasser wieder abgelassen, bis vom T-Stück her eine als Index dienende Luftblase in die Kapillare eintritt, worauf der Schlauch durch den Quetschhahn verschlossen wird. Jetzt läßt man vom Trichter aus mittelst des Dreiweghahnes Wasser in die Kapillare eintreten, wodurch die Luftblase zwischen zwei Wassersäulen eingeschlossen ist und nun durch ihre Bewegung als Index dienen kann. Die Pflanze wird eingesetzt, der Schlauch zwischen Kapillare und Sauggefäß geöffnet und durch Manipulation mit dem Trichter die Luftblase an eine bestimmte, beliebige Stelle zurückgeschoben. Stößt die Pflanze Wasser aus, so wird die Luftblase vom T-Stück weggeschoben und läßt sich durch Senken des geöffneten Trichters unter das Niveau des Sauggefäßes oder durch Ansaugen des sonst abgeklemmten Schlauchstückes am Dreiweghahn wieder einstellen. Werden bei kräftiger Saugung längere Zeit keine Ablesungen gemacht, so wird der Schlauch der Kapillare abgeklemmt, der Trichter geöffnet und so der Index eingestellt. Zwischen Kapillare und deren Saugschlauch kann auch mittelst eines Dreiweghahnes an einem abwärts gerichteten Arm ein Widerstand wie eine mit Quecksilber gefüllte Röhre oder ein blattloses, in Wasser tauchendes Zweigstück als Widerstand in die Saugbahn eingeschaltet werden, so daß nicht aus dem normalen Sauggefäß, sondern aus der unter Quecksilber- oder Zweigwiderstand stehenden Röhre das Wasser genommen wird. Zur gleichzeitigen Messung von Wasseraufnahme und Transpiration wird ein wägbares, aus T-Stück und langer Kapillare bestehendes Potometer ohne Sauggefäß verwendet und die Regulation der Indexluftblase durch einen in dem unteren Teil des T-Stückes verschiebbaren Glasstab besorgt. Die Weite des Kapillarlumens muß genau bekannt sein und die Bestimmung geschieht durch Wägung einer Quecksilbermenge, deren Länge am Maßstab der Kapillare vorher gemessen wurde.

Wurde statt eines Zweiges eine bewurzelte Keimpflanze (Phaseolus multiflorus) verwendet (Fig. 187), so wurden die Pflanzen in großen Gefäßen mit

Nährlösung zur Entwicklung gebracht, aber jedes einzelne Wurzelsystem entwickelte sich in einer 15—30 *cm* langen, 2 *cm* weiten zylindrischen in dem gemeinsamen Gefäß durch einen durchbohrten Pappendeckel festgehaltenen Röhre, die dann folgendermaßen als Potometer benützt wurde. Die Pflanzen wurden am Epikotyl in einen einfach durchbohrten, einseitig aufgeschnittenen Gummistöpsel gefaßt und dieser unter Druck in die Röhre gesteckt, die Bohrung eventuell noch weiter gedichtet. Die Röhre wurde dann umgekehrt mit Wasser oder Nährlösung gefüllt und dann ein zweiter Gummistöpsel mit Kapillare und Maßabteilung eingesetzt. Das überflüssige Wasser wird dabei aus der Röhre in die Kapillare gedrückt, welche dadurch gefüllt wird. Will man die als Index dienende Luftsäule, die sich durch Saugung verschiebt, wieder zurücksetzen, so steckt man die Kapillare entsprechend tiefer ein.

Fig. 187.



O. Renners Potometer mit bewurzelter [illegible]

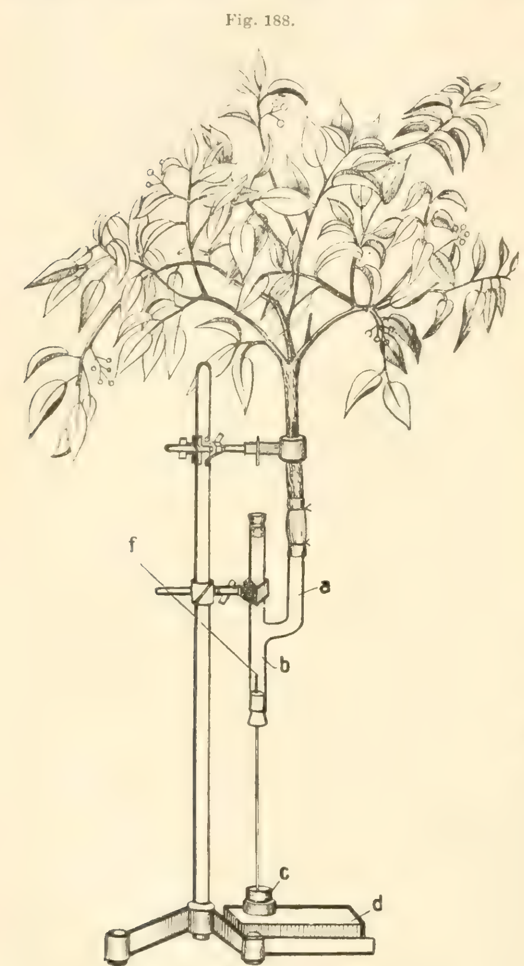
Noch einfacher ist das von *F. Darwin*[1]) verwendete Potometer (Fig. 188 und 189): Es besteht aus einem T-Rohr, dessen Schenkel *a* so gebogen ist, daß er zu den beiden anderen Schenkeln parallel steht und in den ein abgeschnittener Pflanzensproß mittelst eines Kautschukschlauches befestigt ist. Die beiden anderen Röhrenschenkel sind durch Kautschukstöpsel geschlossen, von denen einer von der Thermometerröhre *b* durchzogen ist. Das T-Rohr und die Thermometerröhre werden mit Wasser gefüllt und der Apparat im Stativ so befestigt, daß das Ende von *b* in das kleine Gefäß *c* mit Wasser taucht, aus dem also alles vom Stamm gebrauchte Wasser kommen muß. Um eine Ablesung zu machen, braucht man nur die Holzunterlage *d* wegzuschieben und *c* zu entfernen; am Ende von *b* wird jetzt statt Wasser Luft eingesaugt und wenn eine Luftsäule von einigen Millimetern in das Rohr *b* gelangt ist, wird *c* wieder an seinen Platz zurückgestellt. So ist nun eine Luftblase in *b* eingeschlossen, welche das Rohr aufwärts steigt und die Schnelligkeit der Wasserbewegung in *b* anzeigt, indem die zum Durchlaufen einer bestimmten Strecke nötige Zeit abgestoppt wird. Indem man die reziproken Werte dieser Ablesungen nimmt, erhält man eine

---

[1]) *F. Darwin* and *R. W. Phillips*, Proceed. of the Cambridge Philosoph. Soc. Vol. 5, p. 331 (1885).

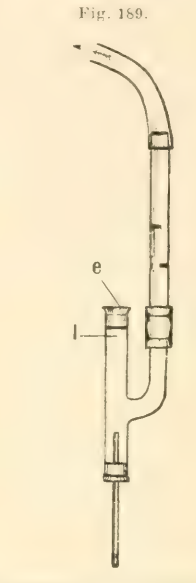
Reihe von Zahlen, die den vom Zweig in einer bestimmten Zeit absorbierten Wassermengen entsprechen. Wenn die Ablesung z. B. 10" ist, deren reziproker Wert 0·1 ist, so ist die Absorption = 100, bei 5" = 200, 20" = 50 etc. Die wirklichen, diesen Zahlen entsprechenden Wassermengen variieren entsprechend dem Lumen der Röhre. Die Zahl 100 z. B. in

Fig. 188.



a rechtwinklig nach aufwärts, *b* nach abwärts gebogener Rohrenschenkel, *c* Napf mit Wasser, *d* Untersatz.

Fig. 189.



Vergrößerung des *Darwin*schen Potometers.

Darwins Versuchen bedeutete eine Quantität Wasser zwischen 4 und 8 *g* pro Stunde. Bei jeder Ablesung tritt eine kleine Luftblase ins Potometer ein und diese Luftblasen vereinigen sich bei *l* und können durch fallweises Entfernen des Stöpsels *e* und Auffüllen mit Wasser entfernt werden. In seltenen Fällen gelangen auch Luftblasen unter den Zweig im Schenkel *a*, was freilich eine bedenklichere Fehlerquelle ist. Der Aufstieg der Luftblase in das Ende von *b* begegnet einigem Widerstande, infolgedessen tritt sie nicht ruhig, sondern mit einem Ruck ein und ruht erst, nachdem sie eine kleine Strecke in der Röhre zurückgelegt hat. Daher darf man die untere Meßmarke für die Wegstrecke der Luftblase nicht unmittelbar am Ende von *b*, sondern etwas weiter oben anbringen. Die ganze Strecke *b*, *c*

ist zirka 10 *cm* lang und das obere Ende *i* ist gleichzeitig die obere Marke der Maßstrecke. Die als Index verwendeten Luftblasen sollen gleich groß sein, abwechselnde Größen der Indices machen die Ablesungen ungenau, da längere Luftblasen schneller wandern. Der Verschluß des Apparates muß überall ein äußerst sorgfältiger sein. Der Apparat ist höchst einfach, schnell zusammengesetzt und abgenommen, jede Ablesung braucht nicht länger als einige Sekunden, so daß man in kurzer Zeit eine Reihe von Beobachtungen machen kann; die Pflanze wird schließlich nicht unnötig geschüttelt oder sonst unsanft behandelt. Beim Sinken des Wasserniveaus in *c* und *e* beim Aufnehmen von Wasser durch die Pflanze bleiben die Bedingungen wohl nicht ganz gleich, aber das spielt kaum eine Rolle, ebensowenig die kleinen Temperaturänderungen des Wassers. Die Prüfung des Apparates durch Ersatz der Pflanzen mittelst eines Saughebers, ferner durch Vergleichung der Ablesungen mit den gewogenen Wassermengen, die ausgeflossen waren, und schließlich mit den Ablesungen an einem Psychrometer ergaben seine gute Brauchbarkeit. Wenn ein abgeschnittener Zweig am Potometer befestigt wird, sind die Ablesungszahlen zunächst sehr hoch, sinken dann rapid und werden erst nach zirka einer Stunde annähernd konstant; diese Erscheinung muß sehr beachtet werden, weil beim Ansetzen von früheren Beobachtungen arge Fehler resultieren können, wie folgende Zahlen der englischen Forscher beweisen: Prunus lusitanica, unter Wasser abgeschnitten und sofort am Potometer befestigt, zeigte bei sofortiger Ablesung folgende Werte:

3h 37' p. m.	263
3h 43' „ „	268
3h 50' „ „	167
3h 54' „ „	159
4h 13' „ „	118
5h 3' „ „	87
5h 37' „ „	76
5h 41' „ „	80

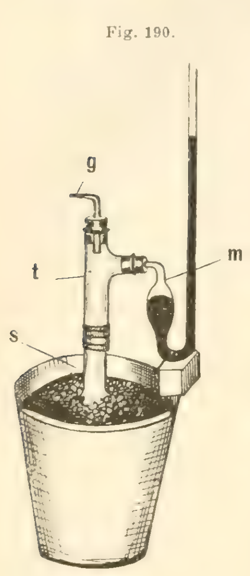
Die Zahlen werden also erst ungefähr 1 1/2 Stunden, nachdem der Zweig aus Potometer angesetzt worden ist, annähernd konstant.

Das Bluten.

Die Ausscheidung von tropfbar flüssigem Wasser kann entweder schon an der unversehrten Pflanze oder erst an der verletzten beobachtet werden; letztere wird als Bluten oder Tränen bezeichnet. Bringt man am Wurzelstumpf ein gebogenes Glasrohr durch Kautschukligaturen an, so kann man aus der Höhe der Wassersäule, die in dem Glasrohr emporgetrieben wird, die Menge, durch die Höhe der Quecksilbersäule, die durch das Blutungswasser emporgedrückt wird, die Kraft des Ausfließens bemessen. Dem Stengelstumpfe oder der Schnittfläche eines beblätterten Stengels

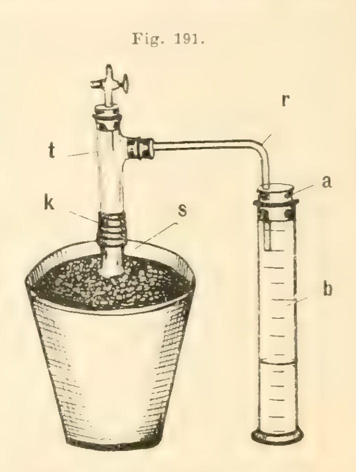
einer in Erde oder Wasser gezogenen Pflanze (Fig. 190) (*W. Pfeffer*, Pflanzenphysiologie, Bd. I, S. 238) wird mittelst Kautschuks, der gut mit Draht oder Bindfaden umwickelt sein muß, das Glasrohr *t* angepaßt, in welches mit Hilfe eines Kautschukstöpsels das in eine Kapillare ausgezogene Glasrohr *g* eingesetzt und die Kapillarspitze so abgeschmolzen wird, daß keine Luft im Apparate bleibt. Durch Herunterschieben von *g* kann man das Quecksilber im Manometer steigen machen und so die Erreichung der endlichen Druckhöhe beschleunigen. Statt *g* kann man auch vorteilhaft einen Glashahn verwenden (Fig. 191). Statt des Manometers kann man sich auch des abwärts gebogenen Rohres *r* bedienen, das die Blutungsflüssigkeit in den Meßzylinder *b* führt, der durch den perforierten Kork *a* (nicht luftdicht) verschlossen wird. Mit Hilfe eines Gummistopfens kann man ein Manometer oder ein Ausflußrohr an das an einem Stamm angebrachte Bohrloch einsetzen, wofür die von *Schwendener* verwendeten pfriemförmigen Einsatzstücke mit seitlicher Bohrung geeignet sind. *Baranetzky*[1]) verwendet folgenden selbstregistrierenden Apparat, der auf dem Prinzip des Schwimmers beruht, welcher mit dem steigenden Niveau der Flüssigkeit in einer Röhre gehoben und mit schreibendem Zeiger versehen ist (Fig. 192). Die Röhre *a* ist eine 8—10 *mm* weite kalibrierte Bürettenröhre, *b* ein 2 *mm* weites ebenfalls kalibriertes Röhrchen, die beide durch das dreiarmige Röhrchen *r* miteinander verbunden sind, dessen freier Arm durch ein Stückchen mit Quetschhahn versehenen Kautschukschlauches überzogen ist. Die beiden Röhrchen *a* und *b* sind in zwei Querbalken *d* aus Kork mit dem dieselben verbindenden Stock *c* parallel gegeneinander unverschiebbar befestigt. Durch das Halterstück *h*, das am Stock *c* befestigt ist, kann die ganze Vorrichtung in vertikaler Lage fixiert werden, worauf durch Eingießen von Wasser aus einer Bürette in die Röhren die Länge der Wassersäule bestimmt wird, welche 1 cm^3 Wasser in den kommunizierenden Röhren einnimmt. Wenn die Röhren so weit sind, daß 1 cm^3 Wasser eine Säule von 25—26 *mm* Länge bildet, wobei das Steigen des Niveaus um $^1/_4$ *mm* 0·1 cm^3 entspricht, so können Hundertstel

Fig. 190.



Pfeffers Instrument zum Messen des Blutungsdruckes.

Fig. 191.

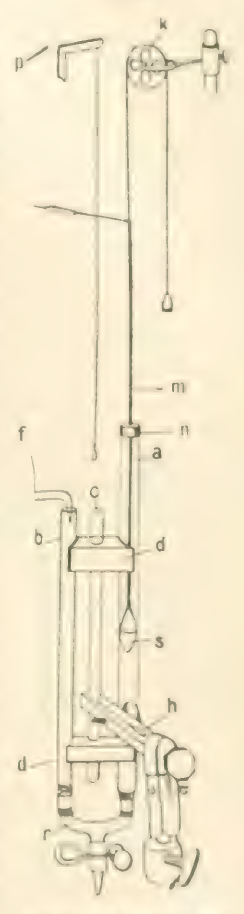


Pfeffers Apparat zum Messen des Blutungsdruckes.

[1]) *J. Baranetzky*, Abhandl. d. naturf. Ges. zu Halle, Bd. **13**, S. 19 (1873).

eines Kubikzentimeters noch sicher beim Steigen des Schwimmers abgelesen werden. Faßt der Apparat 12 *ccm* Wasser, so reicht das für 12 Stunden vollkommen aus. Das Röhrchen *b* dient zur unmittelbaren Aufnahme des von der Pflanze ausgeschiedenen Wassers. In der damit kommunizierenden Röhre *a* bewegt sich der Schwimmer *s*; derselbe ist ein mit Quecksilber beschwerter Bürettenschwimmer aus Glas und bewegt sich im Rohre dicht, aber doch frei, er soll zirka 3 *cm* messen; oben ist er in eine Spitze ausgezogen, an der ein ganz gerade ausgezogener Glasfaden *m* von zirka $1^1/_2$ *mm* Dicke mittelst Siegellack so befestigt ist, daß er mit der Achse des Schwimmers genau parallel läuft. Der Schwierigkeit, daß Röhrchen und Schwimmer nie ideal-zylindrisch sind und die Kapillarität der Flüssigkeit um den Schwimmer herum diesen an die eine Röhrenwand andrückt, wodurch die freie Beweglichkeit verloren geht, wird man in der Weise Herr, daß man den Schwimmer bis zur Hälfte mit Quecksilber füllt und am Glasfaden eine über eine Rolle gehende Seidenschnur befestigt, die ein den Schwimmer äquilibrierendes Gewicht trägt, so schwer, daß der Schwimmer das Wasserniveau gerade nur mit seiner konischen Spitze überragt. Überdies wird an das obere Ende der Röhre *a* eine Blechkappe *n* angesetzt, welche in der Mitte eine kleine Öffnung für den Durchgang des Glasfadens besitzt, so daß seine seitliche Ablenkung verhindert wird. Diese Führung *n* befindet sich aber erst am Ende eines 10—12 *cm* langen Glasrohraufsatzes, der *a* verlängert, so daß auch beim Emportauchen des Schwimmers eine seitliche Ablenkung unmöglich wird. Die Rolle *k* hat zirka 3 *cm* im Durchmesser und ist ein leichtes, fein ausgearbeitetes, sehr leicht bewegliches Messingrädchen. Wesentlich ist auch eine absolut vertikale Aufstellung der ganzen Apparatur. In das Röhrchen *b* wird das Abflußrohr *f* der Versuchspflanze mit feinem dünn ausgezogenem Ende eingeführt und an die Wand des Röhrchens angelegt, damit das Wasser nicht tropfenweise, sondern in kontinuierlichem Strom einfließe.

Fig. 192.

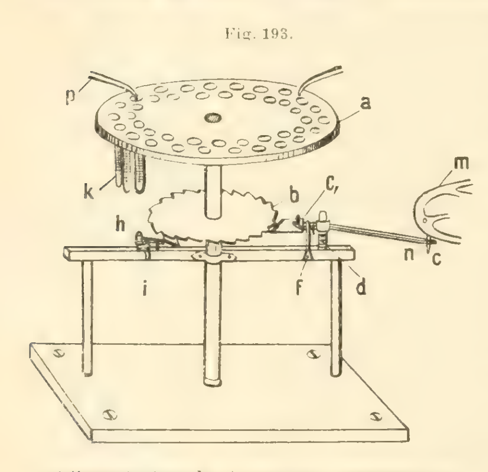


Damit das Wasser nicht zusammenlaufe und das Röhrchen verstopfe, muß es durch Alkohol-Äther vor jeder Verunreinigung sorgfältig gesäubert sein. Das Röhrchen mit dem Quetschhahn gestattet fallweise ein Auslassen des Wassers zur Fortsetzung der Beobachtung, wenn *a* und *b* voll sind. Vor der Ansatzstelle der Seidenschnur ist der Glasfaden rechtwinklig abgebogen und dient als Zeiger, welcher den Stand des Schwimmers auf

dem Zylinder des Apparates aufzeichnet. Auf das Ende dieses Zeigers wird ein 4—5 *cm* langes Stück Grashalm aufgeschoben, der zugespitzt wird; es ist zweckmäßig, den ganzen Schreibhebel nicht länger als 10—12 *cm* anzufertigen, aber auch nicht wesentlich kürzer. Die Spitze des Zeigers wird der Oberfläche des berußten Zylinders seitlich in der Richtung der Zylinderbewegung angelegt. Damit aber bei der freien Bewegung von Schwimmer und Glasfaden um seine Achse die Spitze der Feder nicht vom Zylinder entfernt werde, hängt neben dem Zeiger an seiner, dem Zylinder abgewendeten Seite ein glatter Seidenfaden, an dessen unterem Ende das leichte Gewicht *p* angehängt ist; dieser beschwerte Faden wird mit seinem Ständer so nahe an den Zylinder angerückt und an den Zeiger angelehnt, daß er ihn nur leise andrückt, ohne sein Steigen zu behindern. Beim Beginn der Beobachtung wird der Stand des Zeigers durch einen Strich markiert und die Zeit notiert. Am Ende des Versuches zieht man eine vertikale Linie durch die Marke, um die Abstände der einzelnen Linien voneinander an dieser Vertikalen zu messen.

Ein anderer, selbstregistrierender Apparat wurde von *Baranetzky* (l. c.) nach einem anderen Prinzip konstruiert (Fig. 193). Die Holzscheibe *a* von 20 *cm* Durchmesser und 2 *cm* Dicke ist nahe dem Rande mit einer Anzahl in zwei konzentrischen Kreisen stehender Löcher versehen. Eine Reihe Löcher dient zur Beobachtung mit einer Pflanze, so daß man so viele Lochkreise in der Scheibe haben muß, als gleichzeitig Versuchspflanzen beobachtet werden. Die Zahl der Löcher richtet sich nach der Anzahl der Stunden, für welche ohne Eingreifen des Beobachters der Apparat ausreichen soll. In die Löcher werden schmale kalibrierte Eprouvetten *k* eingesenkt, die an ihrem verbreiterten Rande auf der Scheibe aufsitzen. Das Ende des

Fig. 193.



Selbstregistrierender Apparat von *Baranetzky* zur Messung des Blutungsdruckes.

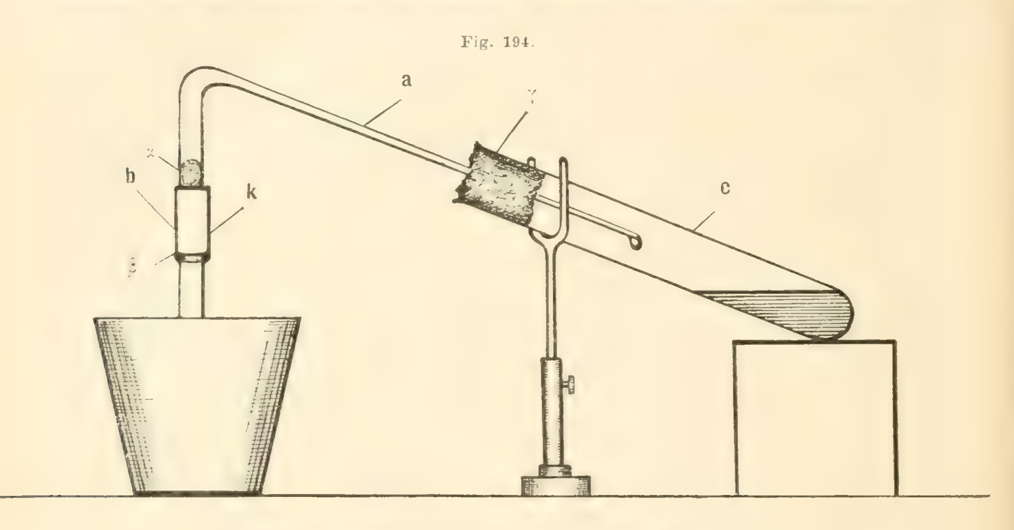
Ausflußrohres jeder Pflanze *p* befindet sich über der Mündung je einer Eprouvette in einer Lochreihe. Die Scheibe macht in der Stunde eine ruckweise Drehung um den Abstand zweier Eprouvetten, so daß das Abflußrohr nach Ablauf einer Stunde über die nächste Eprouvette zu stehen kommt usf. Nach Ablauf einer Anzahl von Stunden sind alle verfügbaren Eprouvetten beschickt worden und man braucht einfach den Stand der Flüssigkeit in jeder abzulesen. An der Achse der Scheibe befindet sich unterhalb ein Messingrad *b*, welches mit genau gleich geschnittenen Zähnen in der Zahl der vorhandenen Eprouvetten versehen ist. Neben dem Rade ist ein an seiner Achse horizontal beweglicher Haken *h* angebracht, welcher in den Zwischenraum

zwischen zwei Zähne hineinpaßt und durch die schwache Feder i angedrückt wird. Dadurch wird die Bewegung des Rades nur in einer Richtung ermöglicht. Der ungleicharmige Hebel c_1 c dient dazu die Bewegung von Rad und Scheibe durch das Triebwerk zu vermitteln, er ist um eine vertikale Achse d drehbar, sein vorderer Teil c_1 ist außerdem mit dem übrigen Teile an einem Scharnier so verbunden, daß er sich in der Horizontalebene, aber nur rückwärts ablenken läßt. An einem Rade des Triebwerkes m, welches eine Umdrehung per Stunde macht, ist ein Stift n angebracht, der bei seiner Bewegung den langen Hebelarm c vor sich stößt; der kleinere Hebelarm c_1 biegt sich dabei rückwärts ab, um an dem Zahn vorbeizugehen, wenn er diesen verlassen hat, wird er aber durch die am Stifte f befestigte Feder mit dem langen Hebelarm c wieder in eine Linie gestellt; ist der Stift n an dem Ende des Hebels vorübergegangen und läßt ihn wieder frei, so schnellt der Hebel, durch die Spiralfeder d gezogen, in seine frühere Lage zurück; das Ende c, welches jetzt den Zahn nicht mehr umgehen kann, schlägt an ihn und treibt ihn vor sich, bis der Hebel sich an den Stift f anlehnt und stehen bleibt. Der Haken h läßt bei dieser Bewegung einen Zahn vorbeigehen und wird durch seine Feder in den Zwischenraum zwischen die zwei folgenden Zähne eingedrückt, wodurch eine weitere Verschiebung des Rades b verhindert wird. In dieser Weise wird bei jeder Umdrehung des Rades m das Rad b um die Breite eines Zahnes und somit die Scheibe a um eine Eprouvette verschoben. Die Drehung der Scheibe kann auch elektromagnetisch durch eine Kontaktuhr bewirkt werden. Die Enden der Ausflußröhrchen sind in dünne Spitzen ausgezogen und mit Fett beschmiert, so daß das ausfließende Wasser sich in kugelrunden Tropfen lange an der Ausflußspitze hält und beim Umdrehen der Scheibe nicht verloren geht. Das Röhrchen braucht nicht höher als 1 mm über dem Scheibenniveau zu stehen, so daß jeder Tropfen in die Eprouvette fällt und selbst, wenn während des Ausfließens eine Umdrehung der Scheibe erfolgt, am Rande der Eprouvette abgestreift wird. Die Verdunstungen aus Tropfen und Eprouvette dürfen als sehr unbedeutend vernachlässigt werden. Zu den Versuchen werden am besten gehörig in Erde eingewurzelte, in geräumigen Töpfen längere Zeit gezogene Pflanzen verwendet. Der Stengel der Versuchspflanze wird nicht über 5 cm hoch über dem Boden abgeschnitten und das Ausflußrohr mittelst eines T-förmigen Rohrstückes angesetzt, wobei kurze Stümpfe durch den verbindenden Kautschukschlauch gegen Verdunstung geschützt sind, während längere zu diesem Zwecke noch mit Stanniol umwickelt werden müssen. Eine gleichmäßige Feuchtigkeit des Bodens während des Versuches ist schon deshalb notwendig, weil die Hauptmasse der Wurzeln sich an der inneren Fläche des Topfes befindet, wo die dünnen Wurzelfasern einen förmlichen Filzbelag bilden. Ein Begießen des Bodens während des Versuches würde den regelmäßigen Gang des Versuches stören, aber es genügt ein Verhindern der Verdunstung seitens der Oberfläche des Topfes, um die Feuchtigkeit des Bodens gleichmäßig zu erhalten. Man begieße den Boden so lange, bis er vollständig

gesättigt ist und reichlich Wasser durchfließt: dann wird die Oberfläche des Topfes mit feuchtem Filtrierpapier und dann Boden und Wände sorgfältig mit Stanniol bedeckt, worauf der so gegen Verdunstung geschützte Topf in einen möglichst genau passenden Blechtopf eingesenkt wird. Die Temperatur des Bodens soll mittelst eines in Hundertstelgrade geteilten Thermometers kontrolliert werden, dessen Kugel sich dicht am Rande des Topfes befindet, wo die Hauptmasse der tätigen Wurzeln sich ausbreitet.

Sehr häufig kommt es darauf an, den Blutungssaft so aufzufangen, daß er bis zur Untersuchung steril bleibt, was namentlich bei zuckerhaltigen Säften, in feuchten, höher temperierten Räumen nicht leicht ist, da sich hier Gärungsvorgänge schon binnen wenigen Stunden zeigen können. Der folgende, von *J. Gicklhorn*, Wien, angegebene Apparat er-

Fig. 194.



J. Gicklhorns Apparat zum sterilen Auffangen des Blutungssaftes.

möglicht das sterile Auffangen von Blutungssäften oder Guttationstropfen (Fig. 194):

a ist ein gebogenes, in eine Kapillare ausgezogenes Rohr, das einerseits in ein auf beiden Seiten offenes zylindrisches Rohr *b* ragt. Dieses trägt zwei, bakteriologisch geformte Wattepfropfen, den einen β, als Umhüllung der Einmündungsstelle des gebogenen Rohres, den zweiten α zum Verschluß der freien Öffnung des Zylinderrohres. An diesem Ende ist ein kurzer Kautschukschlauch über das Rohr geschoben *(k)*. Das kapillare Ende des gebogenen Rohres ragt ziemlich tief in das Glasgefäß (etwa eine Eprouvette) *c* und auch hier ist die Einmündung durch den Wattepfropf γ verschlossen. Der ganze Apparat wird nun im Sterilisator in gewöhnlicher Weise sterilisiert, dann wird die Versuchspflanze dort, wo sie abgeschnitten werden soll, mit 1 $^{0}/_{00}$ Sublimatlösung abgewaschen, der Apparat mit der linken Hand bereit gehalten, während die rechte

mit einem sterilisierten Messer den Schnitt durchführt. Der Wattebausch z wird mit der Bunsenflamme abgebrannt, entfernt und der Pflanzenstumpf sofort durch den Kautschuk des Zylinderrohres, der über den Stumpf gestülpt wird, mit dem Rohre verbunden, dann werden die Kautschukränder, die über die Schnittstelle ragen, mit venezianischem Terpentin verschmiert. So hat man einen luftdichten, vollkommen sterilen Abschluß geschaffen, die Wundstelle ist steril und der Blutungssaft gelangt in einen vollkommen sterilen Behälter, wo er beliebig lang belassen werden kann. Will man das Auffangegefäß wechseln, so kann das ebenfalls vollkommen steril geschehen, indem man eine neue sterilisierte Eprouvette nimmt, in deren Wattestöpsel vorher eine entsprechende Bohrung zum Durchführen des Kapillarrohres gemacht worden war. Durch Abflammen des Stöpsels bzw. des Kapillarrohres kann diese Einführung in steriler Weise geschehen. Der einfache Apparat hat sich schon wiederholt beim praktischen Arbeiten bewährt.[1])

Nachtrag zur Bestimmung der Permeabilität.

(Zum gleichnamigen Artikel in Band VI.)

Neben den plasmolytischen Methoden gründen sich andere auf der Turgorspannung eines lebenden Gewebes, wobei man die Geschwindigkeit der Verlängerung bzw. Verkürzung eines elastischen Gewebes in den betreffenden Lösungen mißt. Zur Bestimmung der Permeabilität eines gelösten Körpers bringt man das zweckentsprechend geformte Gewebestück in eine mit dem Zellinhalt isotonische oder hypotonische Lösung eines nicht permeierenden Körpers, z. B. Rohrzucker, wartet, bis er sich nicht weiter verkürzt, wechselt dann die Lösung gegen eine mit derselben isotonische Lösung des zu untersuchenden Stoffes aus und mißt die Geschwindigkeit der nun eventuell eintretenden Verlängerung. Die Geschwindigkeit der Volumzunahme der Zellen ist jeden Moment der Beobachtung zugänglich und kann graphisch dargestellt werden; dabei verläuft bei Verwendung ganzer Gewebestücke Verkürzung und Ausdehnung langsam genug, um auch die Permeabilität schnell endosmierender Stoffe zu messen.

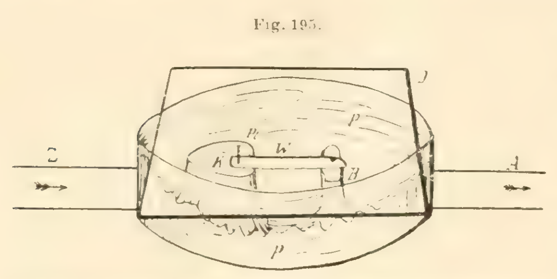
H. Lundegårdh[2]) hat eine bei Wurzeln mit Vorteil zu verwendende Methodik ausgearbeitet. Verwendet wurden Nebenwurzeln von Vicia faba. Die Keimpflanzen wurden vor der Untersuchung in Gefäße mit Wasser gebracht und dort einige Tage belassen; dann wurde die Spitze mit einem Rasiermesser 10 *mm* hinter dem Scheitel abgeschnitten und in den Apparat gebracht, welcher die Vorteile bietet, das Objekt mikroskopisch beobachten, die Ablesungen mikroskopisch machen und die Flüssigkeiten um das Objekt schnell wechseln zu können, ohne dieses selbst aus dem Gesichtsfeld

[1]) *R. Klein*, Beihefte zum Botan. Centralbl. 30, Abt. I, [illegible] (1913).

[2]) *H. Lundegårdh*, Kungl. Svenska vetenskapsakademiens Handlingar, Bd. 47, Nr. 3. Upsala 1911.

zu verlieren. Zur Aufnahme des Objektes dient ein mit Zu- und Abflußrohr versehenes Glasschälchen (Fig. 195). Dieses ist rund mit 3 *cm* Durchmesser, 1 *cm* Höhe, oben am Rande mattgeschliffen und mit zwei seitlichen Röhren *(Z* und *A)* am Boden versehen. In den Boden ist ein Platindraht eingeschmolzen. Auf diesen Draht wird ein Korkstück von 6—8 *mm* Höhe befestigt *(K)* und mit Paraffin getränkt. In 6 *mm* Abstand von diesem Korkstück wird ein Bänkchen *B* von Paraffin, ebenfalls 6—8 *mm* hoch, am Boden festgeschmolzen und außerdem wird, um den freien Inhalt der Schale möglichst zu verkleinern, ringsum etwas Paraffin *P* gegossen. Zur genauen Temperaturbestimmung wird ein besonders konstruiertes Thermometer

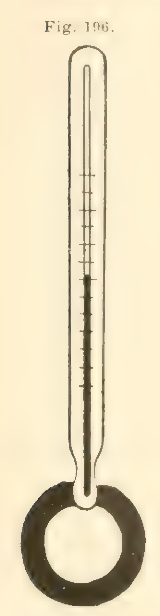
Fig. 195.



Glasschälchen des *Lundegardh*schen Apparates zur Bestimmung der Permeabilität.

(Fig. 196 und 197) benutzt, dessen ringförmig angeordnete Kugel in die Schale eingesenkt wird. Oben ist in das Korkstück mit einer Nadel ein enges Loch gebohrt und hier wird das Objekt mittelst einer eingestochenen dünnen Platinnadel befestigt, so daß seine Spitze auf dem Paraffinbänkchen ruht *(w)*. Während der Untersuchung wird ein großes Deckgläschen (24 × 32 *mm*) aufgelegt, jedoch so, daß an jeder Seite eine freie Spalte entsteht (*D* = Deckglas), was für das richtige Funktionieren beim Durchströmen der Flüssigkeit wichtig ist. Die Schale steht auf dem Objekttische des Mikroskops und wird hier durch zwei Klemmen, die auf den seitlichen Röhren liegen, festgehalten (Fig. 198 *a*). Die Röhren sind etwa 6 *cm* lang, das eine rechtwinklig gebogen, mit einem dreigeteilten *Geißler*schen Glashahn versehen. Das eine Zuflußrohr derselben steht mit einem Glasbehälter für destilliertes Wasser in stetiger Verbindung *(d)*, das andere kann mit den Behältern oder Trichtern für die plasmolysierenden Agenzien und die zu untersuchenden Flüssigkeiten verbunden werden *(b)*. Das Ableitungsrohr der Objektschale *a* ist am Ende etwas aufwärts ge-

Fig. 196.



Thermometer der *Lundegardh*schen Apparates von der Seite gesehen.

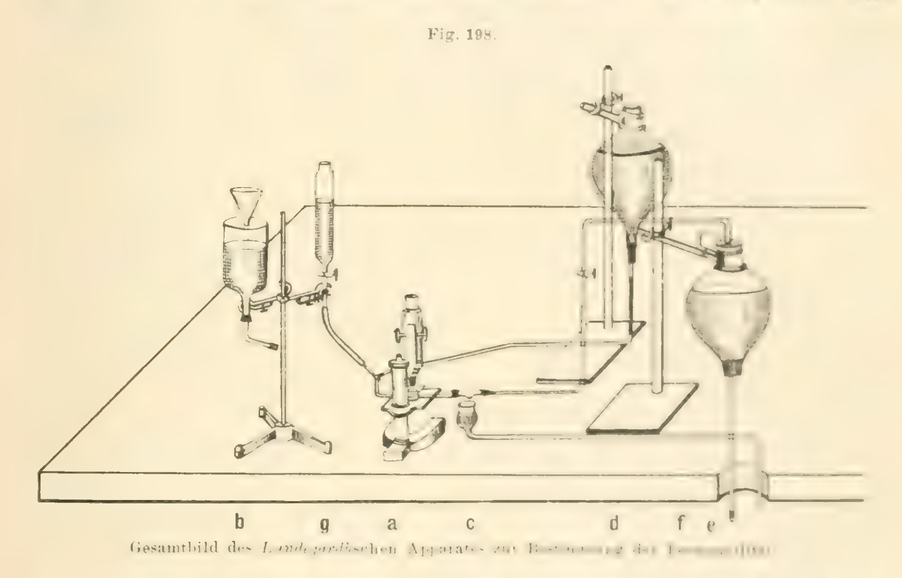
Fig. 197.



Thermometer des *Lundegardh*schen Apparates von oben gesehen.

bogen und hier durch eine Ligatur mit einem Glasrohre folgenden Aussehens verbunden. Das Rohr besitzt eine seitliche Ausbuchtung und am Scheitel dieser Ausbuchtung ein Loch von ca. 5 *mm* Durchmesser; das Loch ist (Fig. 198, *c*) nach unten gerichtet und liegt etwas niedriger als der Rand des Objektschälchens; unter dem Loch ist ein Trichterrohr befestigt, das zu einem am Fußboden befindlichen Ableitungsrohr führt. Wird die Öffnung mit dem Finger oder mit Kautschuk verschlossen, so geht die Ableitung durch das Rohr *f* zum Gefäße *e*, das mit *f* luftdicht verbunden und mit Glashahn versehen ist; ist dieser geöffnet, dann entleert sich *a* sehr schnell. Das Gefäß *e* ist mit Wasser gefüllt und läuft nach unten in ein enges Rohr aus, das in ein Gefäß mündet, welches am Boden steht. Das Röhrchen *c* dient dazu, die Flüssigkeiten zu wechseln, ohne daß

Fig. 198.



Gesamtbild des *Lundegårdh*schen Apparates zur Bestimmung der Permeabilität.

das Objekt der Luft ausgesetzt wird. Wenn nämlich durch den Hahn *g* Flüssigkeit langsam nach *a* strömt, wird sie, sobald die Schale voll ist, bei *c* hinaustropfen. Bei richtiger Niveauregulierung dieser Öffnung kann man es so einrichten, daß *a* immer voll ist, ob Flüssigkeit durchströmt oder nicht; das bewirkende sind dabei Verhältnisse der Oberflächenspannung und aus diesem Grunde darf das Deckglas die Öffnung der Schale nicht vollständig bedecken. Man kann dadurch die Flüssigkeit in *a* schnell und doch sanft wechseln lassen und auch ein kontinuierliches Durchströmen bewirken, dessen Schnelligkeit an der Anzahl der in der Minute fallenden Tropfen bemessen werden kann. Bevor die Wurzelstücke in den Apparat kommen, werden sie mit Marken versehen, damit die Volumveränderungen bequem abgelesen werden können. Dazu kann man durch Glühen von Eisenoxalat hergestelltes, fein verteiltes Eisenoxyd oder auch Kienruß verwenden.

Die abgeschnittenen Wurzelenden bieten den Vorteil einer kleinen Wundfläche, deren besondere Permeabilität man bei vergleichenden Versuchen mit demselben Objekt vernachlässigen kann. Beim Anbringen der Marken läßt man 1 *mm* Länge an der Spitze und 2 *mm* am Basalteil außer Betracht. Die Ergebnisse fallen wesentlich verschieden aus, je nachdem die Permeabilität z. B. für Wasser erhöht oder erniedrigt wird. Eine Erniedrigung der Permeabilität der äußersten Zellschichten verlangsamt nämlich die Wasserbewegung ungemein, während eine entsprechende Erhöhung der Permeabilität in derselben Schicht nur einen geringen Einfluß auf das Resultat hat. Bei nur kurzer Einwirkung der permeabilitätsändernden Substanz kann man also eine geringe Erhöhung der Durchlässigkeit kaum, eine Erniedrigung dagegen sofort nachweisen. Ein weiterer Übelstand liegt in den individuellen Schwankungen, die quantitative Unterschiede setzen, so daß aus einer unter denselben Bedingungen ausgeführten Bestimmung ein Mittelwert gezogen werden muß, mit dem die übrigen Versuchsergebnisse derselben Reihe zu vergleichen sind.

Die Permeabilität wird nun so bestimmt, daß man die Volumveränderung mikrometrisch abliest, d. h. den Abstand zwischen den künstlichen Marken (oder der Marke an der Spitze und der Platinnadel) von Zeit zu Zeit bestimmt. Die in Mikrometerwerten ausgedrückten Volumänderungen können nicht ohneweiters für die graphische Darstellung benutzt werden, da ja der Initialabstand der Marken nicht immer gleich ist, sondern man drückt etwa die Volumänderungen in Prozenten der beobachteten Turgordehnung (bei hypertonischen Lösungen) aus und hat so ein vergleichbares Maß, das auf die Ordinate aufgetragen wird, während die Zeitintervalle auf der Abszisse Platz finden.

Da die Permeabilität proportional ist der Kontraktionsgeschwindigkeit, verhält sich die Permeabilität der Kontraktionszeit gegenüber umgekehrt proportional. Stellen wir alle Versuche einer Reihe unter denselben Bedingungen an, vergleichen wir also übereinstimmende oder analoge Vorgänge, so sind die Volumveränderungen gleich den durchtretenden Flüssigkeitsmengen. Betrachten wir die Durchtrittsgeschwindigkeit reinen Wassers. Wir haben also das Objekt in ein wasseranziehendes Medium gebracht. Die Verkürzung des Objektes geht anfangs am schnellsten vor sich, denn die elastische Dehnung der Zellwände ist anfangs groß, um bei fortschreitender Kontraktion immer kleiner zu werden, während die Konzentration des Zellsaftes fortgesetzt steigt. Die treibenden Kräfte für den Wasserdurchtritt werden also allmählich kleiner, die Volumänderung in der Zeiteinheit verringert sich und wird bei völliger Entspannung der Zellwand gleich Null. Die Kurve verläuft also anfangs steil und verflacht sich dann. Da die Zeit des Beginnes und des Endpunktes der Verkürzung schwieriger zu bestimmen sind als dazwischenliegende Zeiten, empfiehlt es sich, beim zahlenmäßigen Darstellen nicht jene, sondern diese ins Auge zu fassen; denn der Wechsel der Flüssigkeiten in der Objektschale kann niemals augenblicklich geschehen, die Objekte sind von einer ungleichmäßig dicken

Schleimschichte überzogen, der Abstand zwischen den Marken kann verschoben werden und endlich werden die Volumveränderungen gegen Ende des Versuches sehr klein. Würden also nur Anfangs- und Endpunkt bestimmt, so würde die Sicherheit der Ergebnisse leiden und zwar desto mehr, je größer die Permeabilität und je kürzer die Versuchsdauer ist. Zweckmäßig wählt man nicht die Dauer der ganzen Verkürzung zum Vergleich, sondern die zwischen 25 und 75% der Turgordehnung verstrichene Zeit, mit welcher Mittelzeit die Permeabilität indirekt proportional ist. Die Ablesungen sollen nicht zu schnell aufeinanderfolgend gemacht werden, denn Verkürzung oder Verlängerung verlaufen nicht völlig regelmäßig. Immerhin muß man, wenn es sich um Permeabilität von Wasser handelt, Ablesungen nach Sekunden, jedenfalls Bruchteilen von Minuten machen, da hier die Volumveränderungen sehr rasch vonstatten gehen. Im allgemeinen ist es zu empfehlen, entweder ganze Mikrometerintervalle oder ganze Zeitintervalle zu wählen und danach die Zeit- oder Mikrometerablesungen anzupassen.

Register.

Die beigedruckten Ziffern bedeuten die Seitenzahlen.

A.

B.

C.

D.

E.

F.

G.

H.

L.

N.

O.

P.

Q.

R.

T.

U.

V.

W.

Druckfehler.

S. 43, Zeile 11 von unten lies Bellaria anstatt Gloria.
S. 55, „ 22 „ oben „ Visiertrichter anstatt Visierwinkel.
S. 55, „ 23 und 24 von oben lies Ausschnitt anstatt Abschnitt.
S. 55, „ 12 von unten lies Trommelbespannung anstatt Trommelspannung.
S. 63 ist bei Figur 55 die Zahl 2 hinter NaCl wegzulassen.



Druck von Gottlieb Gistel & Cie., Wien, III., Münzgasse 6.

